

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO  
*MALASSEZIA* COMO MICROBIOTA CUTANEA DE PIEL SANA DE  
INDIVIDUOS CON DIFERENTES CARACTERÍSTICAS  
DEMOGRÁFICAS Y DE ESTADOS DE SALUD**

**TESIS DOCTORAL**

**Evelyn González de Morán**

**ALCALÁ DE HENARES, 2012**

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO  
*MALASSEZIA* COMO MICROBIOTA CUTANEA DE PIEL SANA DE  
INDIVIDUOS CON DIFERENTES CARACTERÍSTICAS  
DEMOGRÁFICAS Y DE ESTADOS DE SALUD**

**TESIS DOCTORAL**

**Evelyn González de Morán**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Melchor Álvarez de Mon Soto,**  
Catedrático de Medicina  
Departamento de Medicina, Universidad de Alcalá

***AGRADECIMIENTO***

- ✓ A Dios por sus infinitas bendiciones que me han permitido hacer realidad todas las metas que me he trazado en la vida.
- ✓ A mi amado esposo por su amor, compañía, comprensión y por el apoyo incondicional que siempre me ha brindado para el logro de mis metas, para ti todo mi amor y agradecimiento
- ✓ A mis queridos padres por su amor, todos sus cuidados, principios y valores que me han dado a lo larga de mi vida, ustedes son para mí un regalo de Dios
- ✓ A mi queridos hermanos y sobrinos por estar siempre a mi lado, los amo
- ✓ A mis amigas y compañeras de trabajo, María Lucia, Priscila, Sandra y Luz Mila, por su ayuda incondicional para la realización de este trabajo y por su valiosa amistad
- ✓ A La Universidad del Zulia y a la Universidad de Alcalá, por haberme brindado esta oportunidad de crecimiento profesional.
- ✓ Al Dr. Melchor Álvarez de Mon y a la Dra. Nereida Valero por su apoyo en la consolidación del programa en doctorados en conjunto entre la Universidad del Zulia y la de Alcalá, permitiendo hacer realidad este sueño
- ✓ A mis amigas Miriam y Nayda, más que amigas mis hermanas que la vida me regaló, compañeras de estudio, esfuerzos, metas y logros, gracias por estar siempre a mi lado y compartir conmigo esta maravillosa experiencia en la Universidad de Alcalá.
- ✓ A todas las personas que constituyeron la población objeto de estudio de este trabajo de investigación, gracias por su valiosa colaboración
- ✓ A Eduardo Reyna por su colaboración en el análisis estadístico.
- ✓ A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo.

A TODOS MI ETERNO Y SINCERO AGRADECIMIENTO

EVELYN

***DEDICATORIA***

*A Dios*

*A mi amado esposo Toto*

*A mis queridos padres, hermanos y  
sobrinos*

*Para Ustedes y por Ustedes todo  
mi esfuerzo, los amo*



**ABREVIATURAS****SUMMARY****I. INTRODUCCIÓN**

I.1. Historia	1
I.2. Taxonomía	3
I.3. Características morfológicas y estructurales	4
I.4. Características fisiológicas y bioquímicas	5
I.5. Características inmunológicas	7
I.5.1. Antígenos presentes en <i>Malassezia</i>	7
I.5.2. Inmunidad no específica e inmunomodulación por <i>Malassezia</i>	9
I.5.2.1. Activación de la cascada del Complemento	9
I.5.2.2. Fagocitosis de <i>Malassezia</i>	11
I.5.2.3. Inmunomodulación por <i>Malassezia</i>	11
I.5.3. Sistema inmune de la piel	12
I.5.3.1. Respuesta inmune no específica a <i>Malassezia</i> en individuos sanos	12
I.5.3.2. Respuesta inmune específica a <i>Malassezia</i> en individuos sanos	13
I.6. Características epidemiológicas	15
I.7. Patogenicidad	18
I.8. Cuadros clínicos	21
I.8.1. Pitiriasis versicolor (pv)	21
I.8.2. Dermatitis seborreica (ds) y caspa	22
I.8.3. Foliculitis	24
I.8.4. Enfermedades sistémicas	24



---

I.9. Descripción de las especies de <i>Malassezia</i>	25
I.9.1. <i>Malassezia furfur</i>	25
I.9.1.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	25
I.9.1.2. Características fisiológicas y bioquímicas	26
I.9.1.3. Características ecológicas y epidemiológicas	26
I.9.2. <i>Malassezia sympodialis</i>	26
I.9.2.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	26
I.9.2.2. Características fisiológicas y bioquímicas	27
I.9.2.3. Características ecológicas y epidemiológicas	27
I.9.3. <i>Malassezia pachydermatis</i>	27
I.9.3.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	27
I.9.3.2. Características fisiológicas y bioquímicas	27
I.9.3.3. Características ecológicas y epidemiológicas	28
I.9.4. <i>Malassezia globosa</i>	29
I.9.4.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	29
I.9.4.2. Características fisiológicas y bioquímicas	29
I.9.4.3. Características ecológicas y epidemiológicas	30
I.9.5. <i>Malassezia slooffiae</i>	30
I.9.5.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	33
I.9.5.2. Características fisiológicas y bioquímicas	31
I.9.5.3. Características ecológicas y epidemiológicas	31
I.9.6. <i>Malassezia restricta</i>	31
I.9.6.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	31

---

I.9.6.2. Características fisiológicas y bioquímicas	32
I.9.6.3. Características ecológicas y epidemiológicas	32
I.9.7. <i>Malassezia obtusa</i>	32
I.9.7.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	33
I.9.7.2. Características fisiológicas y bioquímicas	33
I.9.7.3. Características ecológicas y epidemiológicas	33
I.9.8. <i>Malassezia yamatoensis</i>	33
I.9.8.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	33
I.9.8.2. Características fisiológicas y bioquímicas	34
I.9.8.3. Características ecológicas y epidemiológicas	34
I.9.9. <i>Malassezia dermatitis</i>	34
I.9.9.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	34
I.9.9.2. Características fisiológicas y bioquímicas	34
I.9.9.3. Características ecológicas y epidemiológicas	35
I.9.10. <i>Malassezia japonica</i>	35
I.9.10.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	35
I.9.10.2. Características fisiológicas y bioquímicas	35
I.9.10.3. Características ecológicas y epidemiológicas	35
I.9.11. <i>Malassezia nana</i>	35
I.9.11.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas	35
I.9.11.2. Características fisiológicas y bioquímicas	36
I.9.11.3. Características ecológicas y epidemiológicas	36
I.10. Diagnostico de laboratorio	36
I.10.1. Diagnostico directo	37

I.10.2. Aislamiento e identificación	37
<b>II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b>	
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
III.1. Diseño del estudio	44
III.1.1. Tipo de diseño	44
III.1.2. Período de estudio	44
III.1.3. Ámbito del estudio	44
III. 1.4. Selección de la población y procedencia	44
III. 1.5. Criterios de inclusión	48
III. 1.6. Criterios de exclusión	49
III.2. Recolección y procesamiento de las muestras	49
III.2.1. Recolección de las muestras	49
III.2.2. Identificación de las cepas	50
III.2.3. Estudios fisiológicos	51
III.2.4. Estudio bioquímico	52
III.3. Organización de la información	52
III.3.1. Descripción de las variables de la base de datos	52
III.3.1.1. Variables generales	52
III.3.1.2. Variables de grupo	53
III.3.1.2.1. Variables cualitativas	53
III.3.1.2.2. Variables cuantitativas	53
III.4. Análisis estadístico	54
III.5. Búsqueda bibliográfica	54
<b>IV. RESULTADOS</b>	
IV.1. Comparación de los resultados obtenidos entre las poblaciones de individuos sanos	58

---

IV.2. Niños de la etnia Añu	75
IV.3 Niños desnutridos	82
IV.4. Niños con SIDA	89
<b>V. DISCUSIÓN</b>	
V.1. Comparación de los resultados obtenidos entre las poblaciones de individuos sanos	95
V.2. Niños de la etnia Añu	102
V.3. Niños desnutridos	105
V.4. Niños con SIDA	107
<b>V.I. CONCLUSIÓN</b>	
<b>V.II. BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>V.III. ANEXOS</b>	
V.III.1. Informe de consentimiento	129
V.III.2. Ficha de recolección de datos	130
<b>V.IV. PUBLICACIONES</b>	132

***ABREVIATURAS***

<b>CC:</b> Cuero Cabelludo	<b>M. equina:</b> Malassezia equina
<b>C/U:</b> Cada uno	<b>M. ciniculi:</b> Malassezia ciniculi
<b>ESP:</b> Espalda	<b>M. yamatoensis:</b> Malassezia yamatoensis
<b>M:</b> Malassezia	<b>M. dermatitis:</b> Malassezia dermatitis
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b> Factor de Necrosis Tumoral alfa	<b>M. caprae:</b> Malassezia caprae
<b>IL-1:</b> Interleucina -1	<b>MALF:</b> Antígeno de superficie de <i>Malassezia</i>
<b>IL-2:</b> Interleucina -2	<b>ns:</b> No significativo
<b>IL-8:</b> Interleucina -8	<b>PA:</b> Pabellón Auricular
<b>IL-6:</b> Interleucina -6	<b>PE:</b> Pecho
<b>IL-10:</b> Interleucina -10	<b>P. ovale:</b> Pityrosporum ovale
<b>INF- <math>\gamma</math>:</b> Interferón gamma	<b>P. orbiculare:</b> Pityrosporum orbiculare
<b>IgG:</b> Inmunoglobulina G	<b>PV:</b> Pitiriasis versicolor
<b>IgM:</b> Inmunoglobulina M	<b>DS:</b> Dermatitis seborreica
<b>IgE:</b> Inmunoglobulina E	<b>ADN:</b> Acido desoxirribonucleico
<b>IgA:</b> Inmunoglobulina A	<b>HEP:</b> Línea celular
<b>SIDA:</b> Síndrome de inmunodeficiencia adquirida	<b>KDA:</b> Kilo Dalton
<b>VIH:</b> Virus de inmunodeficiencia humana	<b>°C:</b> Grados centígrados
<b>M. furfur:</b> Malassezia furfur	<b>ml:</b> Mililitro
<b>M. slooffiae:</b> Malassezia slooffiae	<b>n°:</b> Número
<b>M. sympodialis:</b> Malassezia sympodialis	<b>lb:</b> Libras
<b>M. globosa:</b> Malassezia globosa	<b>min:</b> Minutos
<b>M. pachydermatis:</b> Malassezia pachydermatis	<b><math>\mu</math>m:</b> Micras
<b>M. obtusa:</b> Malassezia obtusa	<b>mm:</b> Milímetros
<b>M. japónica:</b> Malassezia japónica	<b><math>\mu</math>l:</b> Microlitros
<b>M. nana:</b> Malassezia nana	<b>LN:</b> Agar Leeming y Notman

**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**PCR-REA:** Reacción en cadena de la polimerasa con restricción enzimática

**PFGE:** Electroforesis de campo pulsante

**ns:** no significativo

**T/E:** Talla para la edad

**P/T** Peso para la talla

**%:** Porcentaje

**SAHUM:** Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo

## ***SUMMARY***



**GONZÁLEZ-MORÁN, Evelyn. Quantitative Analysis of the genus *Malassezia* species as cutaneous microbiota in healthy skin of individuals with different demographic characteristics and health status. Post-doctoral thesis. Universidad de Alcalá. Spain, 2012.**

The yeasts of *Malassezia* genus are part of the regular skin of men and other vertebrates. The recent description of new species for the genus has brought interest on their study throughout diverse countries; thus, it's important to carry out research towards obtaining epidemiological data of *Malassezia* species in tropical regions like Venezuela. The goal of the present study is to characterize the species of the *Malassezia* genus isolated from healthy skin of individuals belonging to different age and sex groups, habitats and health status. This study was performed on healthy skin from 587 people, distributed as follows: 98 newborns (24 hours after birth), 80 children (0 – 6 years), 100 adolescents (12 – 18 years), 56 young adults (19 – 25 years), 100 elderly (60 – 89 years), 25 indigenous children from the Añú ethnic group (0 – 6 years), and 80 children with AIDS (0 – 6 years). Samples were taken using the imprinting with transparent tape, from areas like the scalp, ear pavilion, chest and back, and then inoculated in modified Dixon and Sabouraud Dextrose agar media and incubated at 32 °C for 14 days. Identification of species was performed following the guidelines described by Guého et al, the diffusion in Tween test proposed by Gullot et al, the catalase test, and the use of triptofane as the only source of nitrogen. It was evident that in the elderly population, 82 (82.0 %) and in the adolescent population, 80 (80.0 %) were reported as the highest number of individuals positive to *Malassezia* spp ( $p < 0.05$ ). A significant difference was obtained between genders regarding the number of individuals positive to the *Malassezia* spp., male 118 (57.3 %) positive individuals, and female 88 (42.7 %). It was assessed that among the healthy individuals population, *M. furfur* was the predominantly significant species with 158 (58.7%) isolated, followed by *M. sympodialis* 71 (26.4%), *M. globosa* 25 (9.3%) and *M. slooffiae* 15 (5.6%). When assessing the isolation of *Malassezia* spp. in the different anatomical locations studied, it was observed that in the back, the highest number of isolations was observed, 118 (27.5 %) without statistical significance, also ear pavilion 116 (27.0 %), chest 113 (26.3 %) and scalp 82 (19.1 %). From the 25 Añú children studied, 19 were significantly positive to *Malassezia* spp. *M. furfur* (82.6 %) was the predominant species ( $p < 0.05$ ), followed by *M. sympodialis* (19.4 %). The anatomical location with the highest number of isolations for the Añú children was the ear pavilion (30.9 %). 66.7 % of the undernourished children studied were significantly positive to *Malassezia* spp. *M. furfur* (91.4 %) was the most isolated species ( $p < 0.05$  %). Important differences were observed among the undernourished children and the healthy children. 21 children with AIDS were isolated *Malassezia* spp. The only isolated species was *M. sympodialis*. No significant results were obtained when comparing the population of children with AIDS to the population of healthy children.

**Key words:** Yeasts, lipid dependents, *Malassezia*, colonization, identification, epidemiology.

## ***I. INTRODUCCIÓN***

## I.1. HISTORIA

En 1846, Eichstedt describe la presencia de levaduras y micelios en material obtenido de pacientes con pitiriasis versicolor (pv), reconociendo la naturaleza fúngica de esta afección. Hallazgo confirmado en 1847 por Sluyter. Robin, en 1853, al observar células redondas en la piel de pacientes con caspa, denominó al agente etiológico de la pv *Microsporon furfur*. En 1874, Malassez informó sobre células brotantes de forma redondas y ovaladas en el estrato córneo de pacientes con diversas enfermedades de la piel. En 1889, casi medio siglo después de reconocida la etiología de pv Baillon utiliza el término genérico *Malassezia* en honor a Malassez para nombrar hongos dimórficos observados en lesiones de pv e identificar a *Malassezia furfur* como la primera especie del género. La denominación de la especie hace alusión a las finas escamas, de consistencia furfurácea o parecida al salvado, que se desprende de las lesiones en esta afección (Giusano, 2006).

En 1904, Sabouraud propuso el género *Pityrosporum* para la fase levaduriforme y mantuvo el nombre de *Malassezia furfur* para la micelial. Se inicia así la coexistencia de dos sistemas taxonómicos *Malassezia* y *Pityrosporum* y se incorporan nuevas denominaciones lo que aumentó la confusión y controversia, todo favorecido por la variable morfológica y dificultad de cultivo de las levaduras (Hernández et al., 2003). Castellani y Chalmers en 1913, fueron los primeros en lograr cultivar el agente etiológico de la PV y llamaron *Pityrosporum ovale* a la forma oval y en 1951 Gordon designó *Pityrosporum orbiculare* a las levaduras esféricas presentes en la piel con y sin lesiones. Este era el primer indicio de que el agente etiológico de la pv formaba parte de la biota normal de la piel. *P. orbiculare* fue asociado a pitiriasis versicolor y *P. ovale* a Pitiriasis capitis (caspa)

y dermatitis seborreica. Por mucho tiempo los investigadores creyeron que la forma levaduriforme y la micelial que observaban en las preparaciones microscópicas de materiales clínicos eran distintos organismos (Giusano, 2006; Crespo et al., 2002; Guillot et al., 1996). La naturaleza lipofílica de las especies de este género fue descrita por Benhamn en 1939 Weidman, en 1925, aisló de la piel de rinocerontes a *M. pachydermatis* (Padilla, 2005). Dodge en 1935, propuso que esta levadura no lipofílica aislada de animales fuera incluida dentro del género *Malassezia* (Giusano, 2006). Shifrine y Marr, en 1963, demostraron la incapacidad de estos microorganismos para producir ácidos grasos de cadena corta siendo esta una condición importante para su desarrollo (Giusano, 2006).

Acton y Panja sugirieron que *Pityrosporum* era sinónimo de *Malassezia*, pero esta consideración no recibió atención hasta 30 años después. La razón de que la controversia sobre la identidad de *M. furfur* y *Pityrosporum orbiculare* duró tanto tiempo se debió a que este organismo en los casos de PV siempre se presentaba como hifas y esporos mientras que en los cultivos y en piel sana solo bajo la forma de esporos (Acton et al., 1927).

Evidencias de que *Pityrosporum* y *Malassezia*, eran sinónimos fue revelada por Sternberg et al en la década de los 60, aplicaron la técnica de inmunofluorescencia y detectaron el mismo componente antigénico para ambos géneros (Sternberg, 1961). En 1977, Dorn y Roehnert utilizaron un método de cultivo que contenía glicerina, glucosa y Tween 80, indujeron la transformación de los elementos hifales de *P. orbiculare* a la forma de células, las características morfológicas fueron estudiadas por scanning de microscopía electrónica (Dorn et al., 1977). Aceptándose la relación entre la fase levaduriforme y micelial y la posibilidad de conversión entre ellas. Posteriormente en 1986, estudios

micológicos, inmunológicos y genéticos confirmaron la inestabilidad morfológica de este hongo y que la levadura (oval o redonda) y el micelio eran sólo estados simples del complejo ciclo de vida de un mismo hongo. *M. furfur* describía entonces sólo la fase micelial de un hongo cuya fase levaduriforme recibía los nombres de *P. ovale* y *P. orbiculare*, según su morfología. A partir de ese momento se dejó sin efecto el uso del término *Pityrosporum*, adoptándose la denominación de *Malassezia* para cualquiera de las formas que se observen de este hongo (Giusano, 2006). En 1989, Guého y Meyer confirmaron la sinonimia de las especies *P. ovale* y *P. orbiculare* al demostrar una complementariedad ADN/ADN superior al 85% (Guého et al., 1989).

## I. 2. TAXONOMIA

La taxonomía del género ha sido muy controvertida desde su creación por Baillon en 1889. Hasta 1990, sólo 3 especies eran conocidas: *M. furfur* (Robin) Baillon (1889), *M. pachydermatis* (Weidman) Dodge (1935) y *M. sympodialis* (Simmons) y Gueho (1990). Con el desarrollo de técnicas moleculares y la revisión de las características morfológicas ultraestructurales y fisiológicas, se han descrito nuevas especies; *M. restricta* Gueho, Guillot y Midgley (1996); *M. slooffiae* Guillot, Midgley y Gueho (1996); *M. globosa* Midgley, Gueho y Guillot (1996); *M. obtusa* Midgley, Guillot y Gueho (1996); *M. dermatitis* Sugita, Takashima, Nishikawa y Shinoda (2002); *M. japonica* Sugita, Takashima, Kodama, Tsuboi y Nishikawa (2003); *M. yamatoensis* Sugita, Takashima, Amaya, Saito, Tsuboi y Nishikawa (2004); *M. nana* Hirai, Kano, Makimura, Duarte, Hamdan, Lachance, Yamaguchi y Hasagawa (2004). *M. equina* Nell, James, Bond, Hunt Herrtage (2002); *M. caprae* Cabañes, Theelen, Castellá, Baekhout (2007). Recientemente se han descrito una nueva especie aislada de conejo *M. ciniculi* sp. Cabañes, Vega, Castellá (2011).

Por lo tanto, el género *Malassezia* está integrado actualmente por 14 especies, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. japónica*, *M. yamatoensis*, y *M. dermatis* asociadas a flora normal y a patologías en humanos y cinco especies *M. pachydermatis*, *M. nana*, *M. equina*, *M. caprae* y *M. ciniculi* sp. aisladas en animales (González et al., 2009).

La aplicación de técnicas moleculares, especialmente secuenciación de ADN ribosomal, ha permitido encontrar la posición taxonómica del género *Malassezia* incluido dentro del orden *Malasseziales*, clase *Ustilagomycetes*, phylum *Basisidiomycota* y hasta la actualidad no se han descrito teleomorfos (Fell et al., 2000; Gupta et al., 2004).

### I.3. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y ESTRUCTURALES

El género *Malassezia* presentan características morfológicas y estructurales diferentes a los miembros de otros géneros de levaduras. Las células pueden tener formas globosas a subglobosas, ovales o cilíndrica, dependiendo de la especie (Giusano, 2006). Exhiben dos morfologías, una forma micelial y una levaduriforme, esta última frecuentemente ha sido asociada a la piel sana y predomina en los medios de cultivos (Guého et al., 1996; Heymann et al., 1986). In Vitro se ha logrado inducir la formación de micelios; utilizando medios de cultivos y condiciones especiales (Dorn et al., 1977; Nazzaro Porro et al., 1977; Salkin et al., 1977). Aunque no todos los aislamientos de este género son capaces de producir esta transformación. Se ha señalado que ambas formas tienen la misma capacidad patogénica. (Ashbee et al., 2002; Gupta et al., 2004).

Los miembros de este género se reproducen asexualmente por brotación unipolar enteroblastica (Giusano, 2006). La célula madre y la hija están divididas por un tabique, separándose por fisión, dejando este proceso una prominente cicatriz

en la célula madre (Ashbee et al., 2002).

Desde el punto de vista estructural la pared celular es muy gruesa en comparación con otras levaduras, mide alrededor de 0,12 micras y representa de un 26 a un 37 % del volumen total de la célula (Marcon et al., 1992). Está constituida principalmente por un 70 % de azúcares, 10 % de proteínas y un 15 a 20 % de lípidos, con pequeñas cantidades de nitrógeno y azufre (Hechemy et al., 1968; Thompson et al., 1970). Está formada por múltiples capas, destacándose una capa externa alrededor de la célula, que contiene lípidos y desempeña un importante papel en la adhesión del organismo y la membrana citoplasmática unida estrechamente a la superficie interna de la pared celular (Mittag, 1995; Barfatani et al., 1964; Swiff et al., 1965).

El número de mitocondrias varía dependiendo de la forma redonda u ovalada que presenta la célula (Marcon et al., 1992). El núcleo tiene bien definida la membrana nuclear rodeada por un nucleoplasma homogéneo granular, presenta vacuolas y un variado contenido lipídico dependiente de la edad de la célula (Barfatani et al., 1964).

#### I.4. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

La fisiología de estas levaduras es difícil de estudiar debido a los problemas de fiabilidad de los medios de cultivo y el mantenimiento del organismo (Ashbee et al., 2002). La principal característica es que son obligatoriamente dependiente de lípidos (Coutinho et al., 2000)

En relación a los requerimientos lipídicos de estas levaduras, se ha señalado el interés por el ácido oleico (González et al., 1999) y en general la dependencia de una fuente externa de ácidos grasos se atribuye a la incapacidad

de sintetizar ácidos grasos saturados entre 12 y 14 átomos de carbonos de longitud (Leeming et al, 1987) como es el ácido mirístico. Curiosamente, en *Malassezia*, la síntesis de ácidos grasos de cadena superior si es posible como también lo es la interconversión entre ácidos grasos saturados e insaturados. Esos ácidos grasos son indispensables para la formación de estructuras morfológicas de las levaduras de manera que la incorporación de diferentes fuentes lipídicas llega a condicionar la morfología microscópica. Por otro lado se ha demostrado la síntesis de ésteres alcohólicos de ácidos grasos libres previa a la hidrólisis de triglicéridos en todas las especies de *Malassezia* excepto en *M. furfur*, pudiendo contribuir a la formación de ácidos grasos libres en la superficie de la piel (Silva et al., 1997). *M. pachydermatis* es la única especie del género que no requiere de sustancias lipídicas para su desarrollo (Giusano, 2006; Coutinho et al., 2000).

La fuente de lípidos utilizados durante el crecimiento afecta la composición de los ácidos grasos del organismo, lo que sugiere que estos no se utilizan como fuente de energía, sino que se incorporan directamente en los lípidos celulares sin que se metabolicen (Caprilli et al., 1973).

Benhan señaló en 1939, que *Malassezia* es incapaz de fermentar azúcares Usa los lípidos como única fuente de carbono (Nazzaro-Porro et al., 1976). No requiere de vitaminas, oligoelementos o electrolitos para su desarrollo y utiliza preferentemente la metionina como la única fuente de azufre, pero también la cisteína (Brotherton, 1967). Como fuente de nitrógeno usa muchos aminoácidos, así como sales, de amonio (Mayser et al., 1998). Aunque estos microorganismo son cultivados in vitro en condiciones aeróbicas, también son capaces de crecer en baja presencia de oxígeno y en anaerobiosis (Faergemann et al., 1981).



Las especies de *Malassezia* elaboran una serie de enzimas y metabolitos. Tienen actividad lipofílica, tanto in vivo como in Vitro (Catterall et al., 1978; Marples et al., 1972) lo que indica la producción de una lipasa. Esta se encuentra en la pared celular en sitios de la membrana, y el citoplasma (Catterall et al., 1978; Ran et al., 1993). In vitro, produce fosfolipasa la cual provoca la liberación de ácido araquidónico en líneas celulares HEP-2 (Plotkin et al., 1998). Se ha señalado como un mecanismo por el cual estas levaduras pueden desencadenar la inflamación de la piel (Graves et al., 1988). Las especies de este género producen una enzima lipoxigenasa, como lo demuestra su capacidad para oxidar ácidos grasos insaturados libres y esterificados (esculeno y colesterol) (Nazzaro-Porro et al., 1986).

La producción de lipoperóxidos puede dañar las membranas celulares e interferir con la actividad celular, mecanismo que se ha propuesto como causa de las alteraciones en la pigmentación de la piel asociada a pitiriasis versicolor (Lucas et al., 1996). Otro metabolito es el ácido azelaico, el cual se produce cuando *Malassezia* se cultiva en presencia de ácido oleico y es un inhibidor competitivo de la tirosinasa, enzima implicada en la producción de melanina (Nazzaro-Porro et al., 1978), Además impide la proliferación de varias líneas celulares tumorales (Picardo et al., 1985).

## I.5. CARACTERISTICAS INMUNOLOGICAS

### I.5.1. Antígenos presentes en *Malassezia*

De los múltiples antígenos de *Malassezia*, un limitado número han sido estudiados y caracterizados. En 1997, se describió el primer antígeno, MALf 1 se encuentra en la superficie celular, secretado por proteínas de la membrana o pared celular, tiene una masa molecular de 37 KDa (Zargari et al., 1997).

MALf 2 y MALf 3 son antígenos con una masa molecular de 21 y 20 KDa respectivamente, se ha sugerido que son dímeros de una misma proteína unidos por enlaces disulfuro. Presentan un 51 % de secuencias homologas entre ellos y con proteínas de la membrana peroximal de *Candida boidinii*, pero no presentan secuencias homologas con MALf 1 (Yasueda et al., 1998).

Mediante técnicas de electroforesis de gel de poliacrilamida (PEGE) e inmunoblots fue estudiado el antígeno MALf 4, proteína que contiene 315 aminoácidos, una masa molecular de 35 KDa y presenta un 57 % de secuencias homologas con *Saccharomyces cerevisiae*. Los pacientes con dermatitis seborreica reaccionan en un 83 % de los casos con MALf 4, indicando que es un antígeno importante (Onishi et al., 1999).

MALf 5 tiene una masa de 18,2 KDa y 58 % de secuencias homologas con MALf 2 y MALf 3 (Lindborg et al., 1999). El antígeno MALf 6 con una masa de 17,2 KDa y el MALf 5 tienen la capacidad de reaccionar con el suero de pacientes con dermatitis seborreica. Otros antígenos han sido secuenciados como son el MALf 7, MALf 8 y MALf 9. MALf 7 de 16,2 KDa posee 141 aminoácidos, MALf 8 de 19,2 KDa tiene 179 aminoácidos y MALf 9 de 14,0 KDa 126 aminoácidos (Rasool et al., 2000). Todos reaccionan con sueros de pacientes con dermatitis seborreica y ninguno presenta secuencias homologas. Se ha caracterizado de *Malassezia globosa* un antígeno de 46 KDa, el cual reacciona con el suero de pacientes con dermatitis atópica (Koyama et al., 2000).

De los estudios realizados sobre los antígenos del género *Malassezia* se puede concluir que: 1.- Existe una variedad de grupos de antígenos de alto y bajo peso molecular, tanto de proteínas como de carbohidratos. 2.- Ambos son de gran importancia, como el mannan polisacárido

de alta masa molecular. 3.- El uso de medios de cultivos líquidos o sólidos tiene poco efecto en la presentación de antígenos por *Malassezia*. 4.- El número de antígenos de proteínas disminuye en la medida que aumenta el tiempo del cultivo, después de 4 días o más. Mientras que los antígenos de carbohidratos permanecen estables sobre los 21 días de cultivo. 5.- La estabilidad de los antígenos varía dependiendo de la temperatura de almacenamiento. La mayoría de los antígenos descritos son lábiles a temperatura ambiente o temperaturas más altas y se degradan luego de 1 mes de almacenamiento. Para su conservación se recomienda se guarden a temperaturas de 4 °C la mayoría a esta temperatura pueden durar hasta un año almacenados. 6.- *Malassezia* es un organismo complejo de acuerdo con la expresión de antígenos que varia dependiendo de la etapa del ciclo de desarrollo en el cual se encuentre. Los antígenos provienen de la pared celular o de componentes citoplasmáticos y están presentes en las primeras etapas del crecimiento de este hongo. Los antígenos de carbohidratos como el mannan o monoproteínas se mantienen durante todo el ciclo de crecimiento de *Malassezia* (Ashbee et al., 2002).

#### I.5.2. Inmunidad no específica e inmunomodulación por *Malassezia*

##### I.5.2.1. Activación de la cascada del complemento

El sistema de complemento está constituido por más de 30 proteínas del plasma y membrana celular, que desempeñan una función clave en el proceso de defensa del individuo.

Se conoce que el complemento actúa de tres maneras principalmente. La primera función es provocar la lisis de células, bacterias y virus recubiertos. La segunda es mediar el proceso de opsonización en el cual células ajenas, bacterias, virus, hongos entre otros, son preparados para la

fagocitosis. El proceso incluye recubrir la célula extraña con fragmentos específicos del complemento que puedan ser reconocidos por receptores en la superficie de las células fagocíticas. La tercera función consiste en la generación de fragmentos peptídico que regulen las características de la respuesta inflamatoria e inmunitaria. Estas proteínas tienen una función importante en la vasodilatación en el sitio de la inflamación, adherencia del fagocito al endotelio del vaso sanguíneo, salida del fagocito del vaso sanguíneo, migración dirigida de las células fagocíticas hacia áreas de inflamación y finalmente la eliminación del agente infeccioso. La mayor parte de las proteínas de acción temprana del complemento, están presentes en la circulación en forma inactiva. Sufren activación secuencial para causar sus efectos biológicos (Stite et al., 1991).

Se ha demostrado la habilidad de *Malassezia* para activar el complemento tanto por la vía clásica como por la alterna. La intensidad de la activación de la vía alterna y clásica depende de la concentración de la pared celular y del tiempo de exposición. Se ha señalado que el  $\beta$  glucan de la pared celular de *Malassezia* podría ser el responsable de activar la vía alterna. La capacidad de *Malassezia* de activar el complemento se ha sugerido como un mecanismo responsable de la inflamación asociada a dermatitis seborreica. La inflamación mediada por el complemento se ha demostrado en muchas dermatosis como acné vulgar, psoriasis, dermatitis seborreica entre otras. Estudios inmunohistoquímicos de la dermatitis seborreica han encontrado depósitos de C3 presentes en las lesiones, localizados solamente alrededor de células de *Malassezia* (Ashbee et al., 2002).

#### 1.5.2.2. Fagocitosis de *Malassezia*

La fagocitosis de microorganismos es un importante mecanismo de

respuesta inmune no específica para su remoción.

Los receptores involucrados en la unión de *Malassezia* y los fagocitos han sido caracterizados en humanos, receptores de la línea celular monocítica,  $\beta$  glucan y receptores tipo 3 de la vía alterna del complemento. Se ha observado que monocitos de la línea celular THPI al ser estimulados por células de *Malassezia* muertas por calentamiento incrementan la producción de IL-8, mientras que la estimulación de la línea celular HL-60 de G\granulocitos aumentan los niveles de IL-8 y IL-1 $\alpha$ . Células de *Malassezia* vivas y opsonizadas provocan una mayor estimulación que las no opsonizadas y vivas. El efecto de la IL-1 $\alpha$  activa linfocitos, quimiotaxis, neutrófilos e inducen la inflamación; mientras que la IL-8 activa la quimiotaxis, neutrófilos y linfocitos T. La interacción de *Malassezia* con células fagocíticas puede servir para amplificar la respuesta inflamatoria y estimular el posterior reclutamiento de fagocitos. En la piel las células de Langerhans son capaces de presentar antígenos a los linfocitos T, desencadenando una respuesta inmunitaria específica y no específica (Ashbee et al., 2002).

#### 1.5.2.3. Inmunomodulación por *Malassezia*

*Malassezia* sp. es un saprofita de la piel y se ha asociado con varias enfermedades cutáneas, como pitiriasis versicolor, foliculitis, dermatitis seborreica, dermatitis atópica, pustulosis cefálica neonatal y psoriasis (Shamusset et al., 2006).

Se ha estudiado la capacidad inmunomoduladora e invasiva de este organismo y se demostró que modifica la síntesis de citocinas proinflamatorias e inmunomoduladores al disminuir la IL-1, inhibir la IL-6 y el TNF y al aumentar la

IL-10 y el Factor de Crecimiento Transformante-1. La supresión de la respuesta inflamatoria inducida por este hongo tiene un papel importante en la cronicidad (Shamusset et al., 2006).

Los lípidos y glucanos de la pared celular tienen un efecto inmunosupresor en las células del huésped inmunocompetente; disminuyen la actividad fagocíticas de los macrófagos, modifican la liberación de citocinas por los linfocitos en sangre periférica (disminuyen la IL-2 y el Interferón y aumentan la IL-10) e incrementan los leucocitos circulantes (Shamusset et al., 2006).

#### I.5.3. Sistema inmunitario de la piel.

##### I.5.3.1. Respuesta inmunitaria no específica a *Malassezia* en individuos sanos.

Las levaduras del género *Malassezia* son comensales cutáneos y su primer contacto con el sistema inmunitario de los humanos es probablemente a través de la vía del sistema inmunitario de la piel, la cual es considerada como el órgano más grande del cuerpo y sirve de interfase entre el huésped y el medio ambiente. Se encuentra constantemente expuesta a muchos antígenos, tanto de comensales como de poblaciones transitorias de microorganismos. Actualmente se conoce que la piel es un órgano complejo que tiene un importante papel en la respuesta inmunitaria específica y no específica (Ashbee et al., 2002).

La piel es una barrera física para la infecciones; sana e intacta es relativamente resistente a muchos microorganismo. La presencia de flora comensal en la piel es una importante defensa inmunitaria no específica. Las especies de *Malassezia* como flora normal presentan resistencia a poblaciones de otros microorganismos, principalmente a bacterias compitiendo por nutrientes y

espacio, impidiendo que patógenos intenten colonizar la piel. Por otra parte la descamación que ocurre constantemente en la piel, la cual aumenta durante la inflamación causa la pérdida de microorganismos que están colonizando esas células, impidiendo que infecten capas más profundas de la piel (**Leeming et al., 1989; Berk et al., 1976**).

Además de la función de barrera de la piel y su flora normal, los fagocitos son importantes en la respuesta inmunitaria no específica cutánea; ellos pueden atacar organismos mediante mecanismos oxidativos y no oxidativos provocando su remoción. Muchos microorganismos como los dermatofitos, levaduras y bacterias activan la vía alterna del complemento, causando la producción de moléculas con actividad quimiostática por neutrófilos. De este modo estas células pueden ser reclutadas dentro de la piel por la presencia de microorganismos (**Davies et al., 1984**).

Otro factor involucrado en esta respuesta no específica son los lípidos encontrados en las escamas y cabellos de los individuos adultos, los cuales tienen propiedades fungoestática para ciertos dermatofitos (**Bibel et al., 1993**), la presencia de proteínas fungicidas en la epidermis y el efecto inhibitorio de la transferrina insaturada para los hongos (**Kashima et al., 1989**).

#### I.5.3.2. Respuesta inmunitaria específica a *Malassezia* en individuos sanos

La respuesta inmunitaria específica de la piel es celular y humoral, en la celular participan queratinocitos, células de Langerhans, células mononucleares, mastocitos, células endoteliales y linfocitos T. Mientras que en la respuesta humoral el complemento, IgG, IgE, IgA secretora y varias citocinas (**Ashbee et al., 2002**).

Las células de Langerhams se derivan de precursores de la médula ósea y están presentes en la dermis de la piel realizan presentación antigénica. Estas células inmaduras expresan poco complejo mayor de histocompatibilidad clase II y son capaces solo de presentar antígenos a linfocitos T vírgenes. Bajo la influencia del TNF- $\alpha$  y el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos, liberados por queratinocitos, las células de Langerhams maduran y drenan a los ganglios linfáticos para procesar antígenos. Aquí comienza una potente inmunoestimulación celular presentación antigénica específica a los linfocitos T. Las células endoteliales presentes en la pared de los vasos sanguíneos de la piel, comienzan a expresar moléculas de adhesión clase I, debido a la producción de IL-1 y TNF- $\alpha$  por queratinocitos. Los linfocitos T son capaces de adherirse a las células endoteliales y migrar fuera de los vasos sanguíneos por diapédesis alrededor de los tejidos. Una vez en la dermis los linfocitos T secretan INF-  $\gamma$ , el cual induce la expresión molecular de adhesión intracelular en las células endoteliales e incrementan la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad en los queratinocitos y células de Langerhams. Los macrófagos son activados dentro de la piel y su función celular presentadora de antígenos a los linfocitos T amplifica la respuesta (Ashbee et al., 2002).

Un grupo de células ausentes en la piel son los linfocitos B. A pesar de esto se conoce que las inmunoglobulinas específicas a la flora normal se producen en individuos sanos (Cunningham et al., 1992) y que las IgG, IgM, IgE y la IgA secretora están presentes en el sudor humano, protegiendo a la piel del acceso de microorganismos (Ingham et al., 1981). El uso de técnicas inmunohistoquímicas han demostrado que los organismos comensales (especies de *Malassezia*, *Corynebacterium*, entre otros) presentes en la superficie de la piel



sana son cubiertos con inmunoglobulinas. Así, los anticuerpos producidos contra la flora comensal están disponibles al alcance y ataque de estos organismos en la piel (Ashbee et al., 2002).

Se ha señalado que la respuesta inmunitaria específica es la principal defensa contra las infecciones causadas por hongos (Casadevall et al., 1998). La alta incidencia de dermatosis asociada a *Malassezia* en pacientes con inmunodeficiencias celular sugiere que la inmunidad celular es importante para mantener a los organismos comensales. La pitiriasis versicolor es más frecuente en individuos con transplantes renales y en pacientes que reciben esteroides, la foliculitis frecuentemente se observa en pacientes con transplantes de médula ósea y la dermatitis seborreica es muy alta en personas con SIDA. Se ha señalado que la respuesta inmunitaria específica a *Malassezia* como flora normal, permanece a lo largo de la vida, pero se sugiere que podría disminuir con la edad como ocurre en la respuesta de tipo humoral (Ashbee et al., 2002).

## I.6. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

Las especies de *Malassezia* a excepción de *M. pachydermatis* son dependientes de lípidos por que requieren de ácidos grasos de cadena largas para el crecimiento. El hábitat natural de este género es el estrato corneo de la piel y mucosas de animales homeotermos entre los que resultan característicos el perro, el gato y el hombre. La alta presencia de determinados tipos de ácidos grasos libres y triglicéridos en la piel del hombre promueve el desarrollo de *Malassezia*. La utilización de esos lípidos hace que la presencia de estas levaduras sea mayor en aquellas zonas con abundancia de glándulas sebáceas como espalda, pecho y cuero cabelludo (Juncosa et al., 2002). Se ha demostrado la existencia de cierta especialización en cada especie por un tipo de lípido, lo que

denota la existencia de diferencias metabólicas entre ellas; hecho que no solo es importante para la identificación de las especies de *Malassezia* en el laboratorio, sino que tiene relevancia clínica (Silva et al., 1997).

En cuanto a la colonización de la piel sana por especies de *Malassezia* se ha señalado que comienza durante las primeras semanas de vida, alcanzando niveles del 30 % al cabo de un mes (Belf et al., 1988). Sin embargo, se ha reportado ausencia de colonización en niños recién nacidos a término, sugiriéndose que no es probable la transmisión de *Malassezia* desde la madre al niño durante el nacimiento (Marcon et al., 1992).

Investigaciones realizadas en hospitales de Rochester y Philadelphia demostraron una colonización de la piel menor del 5% en los primeros tres meses de vida (Belf et al., 1988; Aschner et al., 1987). En Tailandia se reportó que el 47% de los niños que tenían de 1 a 5 días de nacidos estaban colonizados con *Malassezia furfur*, señalándose algunas diferencias entre la influencia de los factores genéticos y ambientales en la colonización, algunos datos apuntan que el principal factor que contribuye en la colonización de la piel de los recién nacidos e infantes son los ambientales (Marcon et al., 1992).

En niños menores de 10 años la colonización es baja, pero durante la edad prepuberal y puberal, debido al aumento de la actividad de las glándulas sebáceas, la colonización es mayor (80 al 90 %) en la edad adulta (Juncosa et al., 2002). Investigaciones realizadas han señalado una frecuencia del 11,8 % en menores de 15 años y una prevalencia del 11 % en lactantes (Gupta et al., 2001) Se ha sugerido un descenso en la colonización por estas levaduras a medida que se incrementa la edad (Gupta et al., 2004; Tarazooie et al., 2004; Guého et al., 1998). Afirmación que contrasta con los resultados obtenidos por Gupta et al., (2004)

donde el mayor número de aislamientos (93,3 %) se presentó en el grupo etario mayor de 60 años de edad.

El reconocimiento cada vez mayor de *Malassezia* como agente causal de fungemias relacionadas con el catéter en recién nacidos prematuro ha impulsado el estudio de las tasas de colonización en niños prematuros y a término. Estas tasas registraron rangos del 37% a un 100% en hospitalizados. Factores tales como la edad gestacional, bajo peso al nacer y prolongados periodos de hospitalización, pueden predisponer a la colonización en este grupo (Ashbee et al., 2002).

Se estima que *Malassezia* spp puede aislarse del 90% de la piel de individuos sanos; la colonización de estas levaduras parece estar influenciada por factores raciales, sexuales y cambios estacionales siendo más aislada en épocas cálidas y húmedas. Es posible que factores climatológicos jueguen un papel importante en las especies de *Malassezia* presente en la piel sana, por ejemplo se ha señalado que *M. sympodialis* es más común en climas fríos y *M. globosa* en climas cálidos con locación tropical (Gupta et al., 2004). Estudios realizados en España y Japón reportan un predominio de *M. sympodialis* en piel sana, mientras que en el Reino Unido *M. globosa*, *M. sympodialis* y *M. restricta* son más comunes en niños y adultos, observándose pocos aislamientos de *M. furfur*, señalándose que esta especie es muy frecuente en piel sana de individuos que habitan en áreas tropicales (Miggley, 2000).

En individuos sanos, las especies de *Malassezia* varían de acuerdo a la región corporal estudiada. De tronco se ha aislado *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur* y *M. slooffiae*, en el cuero cabelludo además de estas especies se ha aislado *M. restricta*. En conducto auditivo externo *M. restricta*, *M. globosa* y *M.*

*sympodialis*, evidenciándose una alta diversidad de especies en individuos sanos (Hernández et al., 2003).

La prevalencia de las especies de *Malassezia* también parece estar relacionada con la edad Gupta et al. (2004) señalan que *M. furfur* y *M. globosa* son la especie más aislada en niños y adolescentes, *M. sympodialis* es la más común en adultos sanos. Se ha observado que en niños el índice de colonización por *M. furfur* es menor que en adultos, siendo ocasional su aislamiento en menores de 4 años y escaso hasta los 10 años (Nakabayashi, 2002). Se ha sugerido que *M. furfur* usualmente no se encuentra colonizando lactantes (Isa et al, 2001).

#### I.7. PATOGENICIDAD

El género *Malassezia* representado por levaduras dependiente de lípidos, caracterizadas morfológicamente por células de gemación unilateral y repetitiva (Juncosa et al., 2002), es considerado como miembro de la microbiota de la piel del humano y otros vertebrados de sangre caliente (Crespo et al., 2000; Duarte et al., 1999, Feargman et al., 1983). Debido a su dependencia a los lípidos, la mayoría de estas levaduras se encuentran como comensales en áreas cutaneas ricas en glándulas sebáceas. Bajo la influencia de factores facilitadores como: la gestación, hospitalización, antibioticoterapia, malnutrición, niveles plasmáticos altos de corticosteroides, el estrés e infección por VIH, pueden volverse patógenas (Hammer et al., 2000). *Malassezia* puede causar determinados desórdenes dermatológicos, tanto en humanos como en animales. En sujetos con condiciones predisponentes pueden causar infecciones sistémicas (Giusano, 2006). En la tabla 1 se listan las afecciones que se reconocen causadas a este género.

TABLA 1. AFECCIONES CAUSADAS POR *MALASSEZIA*

<b>Afecciones causadas por <i>Malassezia</i></b>
Pitiriasis versicolor
Dermatitis seborreica (Incluyendo caspa)
Foliculitis
Dermatitis atópica
Acné vulgaris
Blefaritis seborreica
Pustulosis neonatal
Papilomatosis confluyente y reticulada
Otitis
Infecciones oportunistas sistémicas
Sepsis por catéter en pacientes que reciben alimentación parenteral con emulsiones lipídicas

Datos tomados de las referencias: **(Giusano, 2006; Juncosa et al., 2002)**

La asociación de las especies de *Malassezia* a diversas patologías ha impulsado el estudio de su ecología y capacidad patogénica **(Giusano, 2006)**. El papel de estas levaduras en las enfermedades dermatológicas no se ha aclarado completamente, ya que estos hongos pertenecen a la flora normal de la piel **(Celis et al., 2005)**.

Es de resaltar que desde el punto de vista de la patogenia, tiene la capacidad de producir fosfolipasa y ésta causa la liberación de ácido araquidónico de las líneas de las células HEP-2. Como los metabolitos del ácido araquidónico están involucrados en la inflamación en la piel se ha sugerido esto, como el mecanismo por el cual *Malassezia* puede desencadenar un proceso de inflamación. La presencia de determinados ácidos grasos libres y triglicéridos promueven el desarrollo rápido e invasor de estas levaduras. En éstas circunstancias los organismos actúan como patógenos oportunistas afectando las

capas superficiales del estrato corneo con cierta progresión hacia la epidermis (Hammer et al., 2000; Belee et al., 1991). También produce una enzima con actividad lipoxigenasa, demostrada por su habilidad de oxidar ácidos grasos insaturados libres y eterificados, escualino y colesterol. La resultante producción de lipoperóxido puede dañar membranas celulares y consecuentemente interferir con la actividad celular, este es uno de los mecanismos que ha sido propuesto como causa de las alteraciones en la pigmentación de la piel asociada a pitiriasis versicolor (Hammer et al., 2000).

Diversas teorías se han propuesto para explicar el mecanismo por el cual la pigmentación de la piel resulta alterada en la pitiriasis versicolor. Actualmente todas están en revisión, e incluso se postula la posibilidad de una sumatoria de mecanismos. Entre los más consistentes se encuentran el bloqueo en la transferencia del melanosoma al queratinocito, la producción de productos indólicos que son potentes filtros ultravioleta, la inhibición de la producción de melanina por sustancias como el ácido azelaico y la intoxicación de los melanocitos por inhibición de la tirosinasa a partir de metabolitos como el ácido dicarboxílico (Giusano, 2006).

De la misma manera que otras levaduras, la actividad fosfolipasa y proteinasa de *Malassezia* spp., puede ser considerada un potencial determinante de virulencia y probablemente juegue un papel importante en la invasión de los tejidos del hospedero. La exposición a la fosfolipasa induce la formación de poros en las membranas de las células epiteliales de los mamíferos, afectando las funciones celulares y favoreciendo la invasión del tejido. Esto explica el papel de estas enzimas en la ocurrencia de lesiones de piel. Las fosfolipasa podrían ser consideradas uno de los tantos factores involucrados en la compleja interacción

entre las levaduras y el hospedador, llevando al desarrollo de lesiones cutáneas (Giusano, 2006).

## I.8. CUADROS CLINICOS

### I.8.1. Pitiriasis versicolor (pv)

Sin duda el cuadro clínico más común producido por el género *Malassezia* dentro de las condiciones superficiales es la pitiriasis versicolor. Enfermedad que presenta una amplia distribución mundial, siendo más frecuente en países con clima tropical (Miggley, 2000). La incidencia en los climas templados es de alrededor de 1%, mientras que los climas tropicales es de un 40 a un 60 %, las lesiones suelen ser más extensas en el trópico y la apariencia microscópica del organismo puede ser diferente del observado en climas templados. En este último, el hongo se observa al microscopio como grupos de levaduras redondas con hifas que pueden ser ramificadas (spaghetti con albóndigas), mientras que en las regiones tropicales se ven levaduras ovales o cilíndricas con filamentos (Ashbee et al., 2002). La mayoría de los casos se observan en adultos y jóvenes, cuando las glándulas sebáceas son más activas (Miggley, 2000). Aunque también ha sido reportada en niños y ancianos (Ashbee et al., 2002).

Se caracteriza por hipo o hiperpigmentación escamosa de las lesiones con poco prurito (Marcon et al., 1992). Es una afección de naturaleza crónica y recurrente (Ashbee et al., 2002). Las lesiones predominan en el tronco, y de este en los hombros y el tórax, en su cara anterior y posterior, seguido por los segmentos proximales de los antebrazos, abdomen, glúteos, y ocasionalmente los pliegues, la topografía más frecuente en la infancia es la cara en su variedad hipocrómica, en la frente, las mejillas, las regiones interiliar y los surcos

nasogeneano. La afectación de la cara no es exclusiva de los niños ya que puede ocurrir en adultos (**Padilla, 2005**).

Esta afección se distingue por manchas de color variable, con escamas finas en la superficie; pueden ser punteadas, lenticulares, reticulares y foliculares; estas lesiones confluyen formando placas eritematosas, hipocrómicas, en ocasiones de gran tamaño, lo que establece la clasificación clínica de acuerdo con el color de las lesiones en: hiperocrómicas e hipocrómicas, siendo esta última la más frecuentes (**Padilla, 2005**).

Investigaciones realizadas en Europa y Asia señalan la especie *M. globosa* como el principal agente causal de esta afección (**Morishita et al., 2000; Tarazooie et al., 2004; Nakabayashi et al., 2000**). En contraste con una investigación realizada en Japón que señala a *M. furfur* y *M. sympodialis* como los principales agentes causales de la pitiriasis versicolor (**Isa et al., 2001**).

#### I.8.2. Dermatitis seborreica (ds) y caspa

La relación entre la ds y la caspa es muy controversial se ha mencionado que las dos entidades clínicas son distintas, mientras que otros señalan que la caspa es la forma no inflamatoria de la ds (**Ashbee et al., 2002**).

La dermatitis seborreica clínicamente se presenta como una inflamación en áreas del cuerpo ricas en glándulas sebáceas, como el rostro, cuero cabelludo, y la parte superior del tronco, a diferencia de la caspa que es no inflamatoria y esta limitada al cuero cabelludo (**Ashbee et al., 2002**).

Las lesiones de ds se producen principalmente en las cejas, pliegues nasolabiales, las mejillas y región esternal e interescapular. La incidencia de esta



afección en la población sana es de un 1 a un 3 %, pero en los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida es mayor (30- 83%), También se ha observado en pacientes con pitiriasis versicolor, lesiones en columna y en personas depresivas. En individuos sanos se vuelve crónica con mucha frecuencia a menudo provocado por el estrés (Ashbee et al., 2002).

Se ha reportado el aislamiento de diferentes especies de *Malassezia* en lesiones de ds, un trabajo realizado en Chile encontró un 72% de *M. globosa*, 14% *M. sympodialis*, 10% *M. furfur* y 4% *M. slooffiae* (Rendic et al., 2003). En Japón han aislado *M. dermatis*, *M. japónica* y *M. yamatoensis* (Sugita et al., 2004). En otras investigaciones se han aislado *M. furfur* (21%), *M. globosa* (21%) y *M. sympodialis* (4%) (Nakabayashi et al., 2000). Sin embargo la participación de estas levaduras como agente causal de ds y caspa ha sido controvertida. El balance de evidencia sugiere que estos microorganismos son importantes en estas etiologías (Ashbee et al., 2002).

### I.8.3. Folliculitis

La folliculitis ocasionada por *Malassezia* consiste en pápulas y pústulas pruriginosas que se producen principalmente en el tronco y los brazos. Su desarrollo se ha descrito en pacientes con compromiso del sistema inmunitario con leucemia, transplante de médula ósea, en niños con transplante de riñón y corazón, SIDA, síndrome de Down, enfermedad de Hodgkin, diabetes y embarazo. Esta afección es más común en países tropicales probablemente, debido al calor y la humedad (Ashbee et al., 2002).

Se ha postulado que *Malassezia* produce la folliculitis por oclusión y posterior sobrecrecimiento en el folículo piloso. Esto es favorecido por factores

externos y/o la reducida resistencia del hospedador. La inflamación es debida a la presencia de los metabolitos de la levadura de los ácidos grasos libres producidos como resultado de la actividad lipasa de estos hongos (**Giusano, 2006**).

#### I.8.4. Enfermedades Sistemicas

*Malassezia* spp. esta asociada a procesos extracutáneos como neumonía, sepsi por catéter en pacientes que reciben alimentación parenteral con emulsión lipídica y peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal. En los pacientes que reciben alimentación parenteral se establece un microambiente ideal en la zona de inserción del catéter, donde puede haber una pequeña cantidad de emulsión lipídica, lo que favorece el crecimiento de los organismos dependientes de lípidos presentes en la superficie cutánea. El catéter proporciona una ruptura de la barrera dérmica a través de la que proliferan los microorganismos que pueden penetrar en el torrente sanguíneo. Además es uno de los organismos implicados en la oclusión del catéter y en la adherencia de éste en la pared venosa (**Juncosa et al., 2002**).

Se ha señalado el alto nivel de colonización en niños ingresados durante largos periodos de tiempo en unidades de neonatología, situación atribuible a la gran manipulación de estos pacientes por parte del personal de los hospitales, asociado también a la prematuridad y al bajo peso (**Juncosa et al., 2002**).

Los síntomas más comúnmente reportados en niños con infección sistémica son fiebre (53%), dolor al respirar con y sin apnea (53%). Otros menos comunes son bradicardias, hepatomegalia, esplenomegalia, neumonía (40%), leucopenia (8%), leucocitosis (31%) y trombocitopenia (48%) (**Marcon et al., 1992**).

Los cambios patológicos ocasionados con *Malassezia* en infecciones

en pacientes con alimentación lipídica parenteral se presentan principalmente en corazón y los pulmones. En estos últimos se puede llegar a observa completa oclusión de la arteria pulmonar, trombosis séptica, vasculitis, alveolitis, estas levaduras pueden encontrarse alrededor de las paredes de los alvéolos provocando inflamación celular aguda y bronqueolitis. Además pueden diseminarse a otros órganos como riñones, páncreas, colon, glándulas adrenales, hígado y bazo (Marcon et al., 1992).

En los últimos 20 años se han reconocido cada vez más las fungemias por *Malassezia*, pero la dificultad de esta para desarrollarse en medios de cultivo tradicionales hace difícil su identificación, lo que podría influir en el número de casos reportados, los cuales pueden ser mayores que los que indican los estudios actuales (Ashbee et al., 2002).

## I.9. DESCRIPCION DE LAS ESPECIES DE *MALASSEZIA*

### I.9.1. *Malassezia furfur*.

#### I.9.1.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Macroscópicamente en agar Dixon después de siete días de incubación a 32 °C, se desarrollan colonias de color crema, mate u opacas, planas embonadas y ligeramente replegadas con elevación convexa, textura suave o quebradiza (Guého et al., 1989).

Microscópicamente esta especie es morfológicamente heterogénea, ya que puede presentar células ovaladas, cilíndricas o esféricas de 4 a 6 µm. La base de la gemación es amplia. Se pueden encontrar hifas o filamentos cortos en cualquier punto de la superficie celular (Ashbee et al., 2002).

### I.9.1.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Para su desarrollo requiere de la adición de ácidos grasos de cadena larga. Tiene la capacidad de utilizar los Tween 20, 40, 60 y 80 como única fuente de lípidos y la glicina como fuente de nitrógeno (Murai et al., 2002). Reacción de la catalasa positiva, presenta actividad fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, N-naftol fosfohidrolasa, lipasa, leucina,  $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -glucoronidasa y N-acetil-  $\beta$ -glucominidasa. Crece a temperaturas entre 32 y 41°C (Marcianti et al., 2000).

### I.9.1.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie ha sido asociada a una gran variedad de infecciones de la piel como pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica, dermatitis atópica y foliculitis (Plotkin et al., 1998). Se ha señalado como agente causal de sepsi asociada a catéter en pacientes que reciben emulsiones lipídicas por vía parenteral, principalmente en paciente de alto riesgo como neonatos (Aschner et al., 1987; Guého et al., 1998), también se ha descrito casos de septicemia (Schelman et al., 2000) ha sido aislada en otitis externa en vacas y perros (Crespo et al., 2000; Crespo et al., 2002).

## I.9.2. *Malassezia sympodialis*

### I.9.2.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Las colonias en agar Dixon luego de siete días de incubación a 32 °C, son refringentes, lisas y aplanadas, con una ligera elevación central de consistencia blanda (Guého et al., 1996). Microscópicamente se observan levaduras pequeñas de 2,5 a 5  $\mu$ m de longitud; la base de la gemación es angosta. En esta especie ha sido descrita la gemación monopolar simpodial (Ashbee et al., 2002).

### I.9.2.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Esta especie no utiliza el tween 20 como fuente de carbono, es dependiente de lípidos y crece en medios de cultivo cuando se les agrega tween 40, 60 y 80 en concentración de 1-10 %. Se ha detectado la presencia de actividad fosfatasa alcalina, lipasa, fosfolipasa ácida, N-fosfohidrolasa y  $\beta$ -glucoronidasa (Mancianti et al., 2000). A diferencia de *M. furfur* no utiliza la glicina como única fuente de nitrógeno (Murai et al., 2002). La temperatura óptima de crecimiento es 34 °C (Guého et al., 1996).

### I.9.2.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie se ha asociado a pitiriasis versicolor, dermatitis atópica y estudios realizados en infante sugieren que tiene un papel importante en la forma severa de pustulosis encefálica neonatal (Niamba et al., 1998).

## I.9.3. *Malassezia pachydermatis*

### I.9.3.1. Características morfológicas macroscópicas microscópicas

En agar glucosa/ peptona a los siete días de incubación a temperatura de 32°C, las colonias son de color crema, mates, convexas (Guého et al., 1998). Células pequeñas cilíndricas de 2,5 a 4  $\mu$ m de longitud; la base de la gemación es ancha dejando una prominente cicatriz en la célula madre al separarse (Marcon et al., 1992).

### I.9.3.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Es la única especie del género que no es dependiente de lípidos, (Guillot et al., 1999), por lo tanto se desarrolla en medios de cultivo de rutina como agar sabouraud. Sin embargo la adición de grasas al los medios de cultivo como

tween 80 (Lorenzini et al., 1987), aceite de oliva (Ahearn et al., 1998), y aceite de germen de trigo (Kiss et al., 1996) pueden incrementar su crecimiento.

A pesar de que se ha descrito que no asimila ni fermenta los azúcares, algunos investigadores luego de modificar las pruebas de asimilación obtuvieron resultados positivos para las siguientes fuentes de carbono: D-glucosa, D- manitol. D- glucitol, glicerol, ácido láctico, sorbitol, sacarosa, maltosa, celobiosa, inulina y trehalosa. Tiene actividad protinasa, fosfolipasa, hialuronidasa y controitín-sulfatasa (Cutinho et al., 2000). La temperatura óptima de crecimiento es 37 °C (Guého et al., 1996).

#### I.9.3.3 Características ecológicas y epidemiológicas

*M. pachydermatis* forma parte de la flora normal de la piel de perros y gatos (Bond et al., 2000; Bond et al., 1996). En los perros puede aislarse frecuentemente del ano, cavidad oral, área interdigital, labio inferior y conducto auditivo externo (Bond et al., 1995). La ecología de esta levadura ha sido ampliamente estudiada debido a su importancia como patógena oportunista (Guillot et al., 1999).

Los factores primarios que favorecen la multiplicación de *M. pachydermatis* son: la producción excesiva y/o una modificación de la naturaleza de las propiedades del sebo o del cerumen, humedad elevada, una posible ruptura de la barrera epidérmica y la presencia de pliegues cutáneos.

Las principales infecciones asociadas a esta levadura en los animales son otitis externa y dermatitis seborreica, que afecta principalmente a los carnívoros, en especial perros y gatos (Guillot et al., 1999). También se ha aislada en piel sana de animales como conejos, osos, focas, vacas,

caballos, zorros, aves, cerdos, ovejas, cabras, cobayos, rinocerontes, elefantes, ciervos, primates y osos hormigueros (Crespo et al., 2002; Duarte et al., 1999; Guillot et al., 1999; Guillot et al., 1994; Guillot et al., 1969).

Ocasionalmente se ha asociado a infecciones sistémicas en neonatos prematuros de bajo peso, internados largos periodos de tiempo en unidades de cuidados intensivos y que han recibido antibióticos de amplio espectro y alimentación parenteral basada en lípidos, en pacientes inmunosuprimidos (Mickelsen et al., 1988). Su presencia en la piel humana puede deberse a la transferencia de *M. pachydermatis* a partir de la piel de los animales (Silva et al., 1997).

#### I.9.4. *Malassezia globosa*

##### I.9.4.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio de Dixon agar luego de siete días de incubación a 32°C las colonias son elevadas, plegadas, rugosas de textura áspera y quebradiza (Guého et al., 1996). Presentan blastoconidias esféricas que alcanzan de 6 a 8 µm con gemas formadas en una base de gemación angosta; se han observado cortos filamentos en algunos aislados (Marcon et al., 1992).

##### I.9.4.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Requiere de la presencia de ácidos grasos de cadena larga para su desarrollo. No crece en medio en agar glucosa/peptona conteniendo Tweens 20, 40, 60 y 80 como única fuente de lípidos. Sin embargo, en ocasiones al igual que *M. obtusa* y *M. restricta* forma un anillo de precipitación alrededor del pocillo que contiene Tween 40 y 60, sin crecimiento visible. Esta

precipitación puede avanzar hacia el posillo, hasta formar un disco opalescente completo. Ocasionalmente puede formar colonias pequeñas a lo largo de una línea entre los pocillos que contienen Tween 60 y 80 y entre los que tiene Tween 80 y 20. Este fenómeno podría representar un sinergismo con bajas concentraciones del lípido correspondiente. No crece a 37 °C o este es muy débil (Guého et al., 1996; Guillot et al., 1996). Presenta actividad fosfatasa alcalina, esterasa, fosfatasa ácida y N-naftol fosfohidrolasa (Mancianti et al., 2000).

#### I.9.4.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Se ha evidenciado una alta densidad de *Malassezia globosa* en piel sana de individuos que habitan en climas cálidos con locación tropical. La presencia de esta especie varia dependiendo de la región corporal estudiada observándose principalmente en tronco, cuero cabelludo y conducto auditivo externo (Hernández et al., 2003).

Resultados obtenidos en diversos estudios sobre pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica y en pacientes con caspa, sugieren que *M. globosa* juega un papel importante en la etiología de estas enfermedades, sola o en asociación con otras especies del género (Nakabayashi et al., 2000; Crespo et al., 1999; Gemmer et al., 2002).

#### I.9.5. *Malassezia slooffiae*

##### I.9.5.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Las colonias en Agar Dixon a 32°C y siete días de incubación, son rugosas generalmente con surcos y textura áspera. Microscópicamente se visualizan células cilíndricas cortas que miden de 1,5 a 3,5 µm; a menudo se



observan en pares y la base de la gemación es ancha (Ashbee et al., 2002).

#### I.9.5.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Es una levadura dependiente de lípidos. Catalasa positiva, se desarrolla en medio de agar glucosa/peptona en presencia de Tween 40 y 60 a una concentración desde 0,1 a 10 %, como única fuente de lípidos. Sin embargo, no se observa crecimiento cuando se agrega al medio Tween 80 al 0,1%. Crece a temperatura de 37 °C, con un máximo de 40 °C. No hidroliza la esculina (Mayser et al., 1977). Respecto a la actividad enzimática extracelular produce fosfatasa alcalina, estearasa, lipasa, fosfatasa ácida y N-fosfohidrolasa,  $\beta$ -glucoronidasa y  $\beta$ -glucosidasa (Mancianti et al., 2000).

#### I.9.5.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Estudios sobre el aislamiento e identificación de *M. slooffiae* demuestran que forma parte de la biota normal, localizándola en individuos sanos y enfermos (Crespo et al., 1999). Aislándose de tronco y cuero cabelludo principalmente (Hernández et al., 2003). En pitiriasis versicolor se ha aislado en un 6% de los casos y en dermatitis seborreica en un 4 % (Crespo et al., 1999). En animales los primeros aislamientos se hicieron en piel sana de cerdo, cabras, ovejas, vacas y caballos, también se ha asociado a otitis externa en vacas (Crespo et al., 2002; Guého et al., 1996).

#### I.9.6. *Malassezia restricta*

##### I.9.6.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio de Dixon a 32 °C después de siete días de incubación, las colonias son opacas, lisas y con bordes rugosos de textura dura y quebradiza (Guého et al., 1996). Presenta células pequeñas esféricas u ovoides (2-4  $\mu$ m), la

base de la gemación es relativamente angosta (Ashbee et al., 2002).

#### I.9.6.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Es la única especie dependiente de lípidos que presenta reacción negativa a la catalasa. No crece en agar glucosa/peptona en presencia de Tween 20, 40, 60 y 80 a una concentración entre 0,1-10 % como única fuente de lípidos. Se desarrolla a una temperatura de 37 °C con un máximo de 39 °C (Guého et al., 1996). En cuanto al perfil de actividades enzimáticas, presenta fosfatas alcalina, esterearasa y N-fosfohidrolasa (Mancianti et al., 2000).

#### I.9.6.3. Características ecológicas y epidemiológicas

*Malassezia restricta* se aísla frecuentemente de cuero cabelludo, cara y conducto auditivo externo (Hernández et al., 2003; Guého et al., 1998). Estudios sobre la prevalencia de las especies de *Malassezia* en grupos de individuos con diferentes edades, se encontró con más frecuencia en personas entre 15 hasta los 40 años. En pacientes con pitiriasis versicolor se presenta en un 3 % y en dermatitis seborreica un 63,9 % (Crespo et al., 1999). Se considera junto a otras especies como agente causal de la caspa (Gemmer et al., 2002).

### I.9.7. *Malassezia obtusa*

#### I.9.7.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio de Dixon a 32 °C después de siete días de incubación las colonias son planas y lisas con una textura mucoide (Guého et al., 1996). Exhibe células largas y cilíndricas de 4-6 µm, presenta filamentos únicos o ramificados; la base de la gemación es ancha (Ashbee et al., 2002).

### I.9.7.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Es una levadura dependiente de lípidos que no puede utilizar los diferentes Tween (20, 40, 60 y 80) como única fuente lípidos sobre agar glucosa/peptona a una concentración de 0,1-10%. La reacción de catalasa, ureasa, son positivas. Usualmente crece a temperaturas de 37 °C con un máximo de 38 °C (Guého et al., 1996). Presenta las actividades enzimáticas fosfatasa alcalina, esterase, esterase lipasa, fosfatasa ácida y N-fosfohidrolasa (Mancianti et al., 2000).

### I.9.7.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie se aísla con poca frecuencia en la piel humana (Guého et al., 1998). Esta aseveración se ve reflejada en los resultados obtenidos en un trabajo sobre porcentaje de recuperación de especies del género *Malassezia* obtenidas de piel sana de niños y adultos a partir de cuero cabelludo, donde *M. obtusa* representó el 1 % en niños y completa ausencia en adultos del total de casos analizados (Midgley, 2000).

### I.9.8. *Malassezia yamatoensis*

#### I.9.8.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

En medio agar Leeming y Notman (LN) a 32 °C y después de siete días de incubación se desarrollan colonias de color blanco amarillento, rugoso o algunas veces plegadas. Microscópicamente presenta células vegetativas ovaladas, elipsoidales de 2-4,4 x 2-7,5 µm, la base de la gemación es angosta (Sugita et al., 2004).

#### I.9.8.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Crece en agar glucosa/ peptona suplementado con Tween 20 (10 %), 40 (0,5 %), 60 (0,5 %) y 80 (0,1 %) como única fuente lipídica. Se desarrolla a temperatura de 37 °C pero no a 40 °C. La reacción de la catalasa es positiva (Sugita et al., 2004).

#### I.9.8.3. Características ecológicas y epidemiológicas

La cepa tipo fue aislada de un paciente con dermatitis seborreica en Japón. Se considera que forma parte de la microbiota cutánea en humano aunque no sea un miembro mayoritario. Se ha aislado de sujetos sanos y de pacientes con dermatitis seborreica y dermatitis atópica, en Japón (Sugita et al., 2004).

#### I.9.9. *Malassezia dermitis*

##### I.9.9.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Las colonias en medio agar LN a 32 °C luego de siete días de incubación son de color blanco amarillento, de semibrillantes a opacas, convexas y de textura cremosa. Presentan un margen entero o lobulado. Las células vegetativas son esféricas, ovales o elipsoidales que miden de 2-8 x 2-10 µm, algunas veces pueden observarse hifas (Sugita et al., 2002).

##### I.9.9.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Crece en medio de agar glucosa/peptona suplementado con Tween 20, 40, 60 y 80 a una concentración de 0,1-10 % como única fuente de lípidos. La reacción de la catalasa es positiva. Crece a temperatura de 32 °C como máximo de 40 °C. La hidrólisis de la esculina es negativa. Las características fisiológicas de esta especie son idénticas a las de *M. furfur* (Sugita et al., 2002).

### I.9.9.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie fue aislada de lesiones de piel de pacientes con dermatitis atópica en Japón (**Sugita et al., 2002**).

### I.9.10. *Malassezia japonica*

#### I.9.10.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Las colonias en medio agar LN a 32 °C, luego de siete días de incubación son de color amarillo pálido, de semibrillantes a opacas, rugosas con un margen entero y lobulado. Las células vegetativas son esféricas, ovales o elipsoidales (2-5 x 2-7 µm). Presentan gemación simpodial (**Sugita et al., 2003**).

#### I.9.10.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Crece en medio de agar glucosa/peptona con Tween 40 y 60 a una concentración del 0,5 % como única fuente de lípidos. No es capaz de asimilar Tween 20 y 80. La temperatura máxima de crecimiento es a 37 °C la reacción a la catalasa es positiva (**Sugita et al., 2003**).

#### I.9.10.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie fue aislada por primera vez de piel sana de personas en Japón, se ha relacionado con pacientes con dermatitis atópica y se desconoce su papel como patógeno en otras enfermedades de la piel (**Sugita T et al, 2003**).

### I.9.11. *Malassezia nana*

#### I.9.11.1. Características morfológicas macroscópicas y microscópicas

Luego de siete días de incubación a 32°C en medio de agar Dixon,

las colonias son de color amarillo, de brillantes a opacas, lisas, y convexas, de textura blanda y viscosa. La observación al microscopio muestra células pequeñas de forma ovoide a globosa (1,5-2 x 2,5-3  $\mu\text{m}$ ) con gemación monopolar en una base angosta (Hirai et al., 2004).

#### I.9.11.2. Características fisiológicas y bioquímicas

Se desarrolla en agar glucosa/peptona con suplementación de Tween 40 y 60 a una concentración de un 0,5 %, en Tween 20 al 10 % y en Tween 80 al 0,1 % el crecimiento es pobre. La hidrólisis de la esculina es negativa. La reacción a la catalasa es positiva. Crece a una temperatura de 37°C y algunas cepas a 40 °C (Hirai et al., 2004).

#### I.9.11.3. Características ecológicas y epidemiológicas

Esta especie fue aislada por primera vez en un gato con otitis externa en Japón (Hirai et al., 2002). Posteriormente se han aislado cepas a partir de cerumen o secreciones óticas de bovinos con y sin otitis externa (Hirai et al., 2004).

### I.10. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Los métodos convencionales empleados para la identificación de las especies del género *Malassezia* se basan en el estudio macro-y micro morfológico, en la habilidad de utilizar diferentes Tweens (20, 40, 60 y 80) como fuente de lípidos en un medio simple y en las propiedades fisiológicas tales como: presencia de catalasa, tolerancia de crecimiento a 37°C (Guillot et al., 1996; Guého et al., 1996), desarrollo en presencia de cremophor EL y la actividad de  $\beta$  glucosidasa, entre otros. Otras pruebas de identificación incluyen técnicas moleculares las cuales se utilizan como herramientas epidemiológicas confirmando la existencia

de nuevas especies (Celis et al., 2005).

#### I.10.1. Diagnostico directo

La morfología de las células de levaduras de *Malassezia* es fácil de observar en el examen micológico directo con hidróxido de potasio con tinta Parker azul o negra permanente, solución de Albert o azul de metileno (1%), o en preparaciones histológicas coloreadas con ácido peryódico de Schiff. Como un método más selectivo se recomienda el uso de blanco de calcoflúor, con el que la visualización de las estructuras es mejor (Giusano, 2006).

#### I.10.2. Aislamiento e identificación

Las especies de *Malassezia* debido a su característica dependiente de lípidos, requieren de medios de cultivo especiales para su aislamiento, excepto *M. pachydermatis*. La literatura recomienda dos medios, Dixon y Leeming y Notman los cuales ofrecen el mejor rendimiento (Midgley, 2000). Para asegurar el desarrollo de todas las especies, la temperatura de incubación ideal es 32°C, con un rango de 31-35°C, durante un tiempo promedio de 7 días (Escobar et al., 2000). Medios suplementados, por ejemplo Sabouraud con aceite de oliva, han sido utilizados en el pasado pero tienen la limitación que algunos miembros de este género no se desarrollan o tienen una sobrevivencia corta en este sustrato. *M. globosa*, *M. obtusa* y *M. restricta* necesitan medios más complejo, principalmente las dos últimas (Giusano; 2006).

Las características fisiológicas y morfológicas propias del género *Malassezia* le permiten diferenciarlo de otras levaduras. Sin embargo, debido a que sus especies comparten muchas de estas características, no existe un método rápido y simple para su tipificación. En la tabla 1 se presenta un esquema

de identificación propuesto por Guého y Guillot, basado en características bioquímicas y fisiológicas (Guého et al., 1996; Guillot et al., 1996).

**TABLA 2.** Características bioquímicas y fisiológicas de las especies de *Malassezia*.

Especies de <i>Malassezia</i>	Crecimiento en Sabouraud 32°C	Crecimiento en Dixon			Catalasa	Asimilación Tween (T)			
		32°C	37°C	40 °C		T20 10%	T40 0,5%	T60 0,5%	T80 0,1%
<b>yamatoensis</b>	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<b>dermitis</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>sympodialis</b>	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<b>furfur</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>nana</b>	-	+	+	+/-	+	+/-	+	+	d
<b>slooffiae</b>	-	+	+	+	+	+od	+	+	-
<b>japonica</b>	-	+	+	-	+	-	d	+	-
<b>globosa</b>	-	+	do-	-	+	-	-	-	-
<b>obtusa</b>	-	+	do+	-	+	-	-	-	-
<b>restricta</b>	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<b>pachydermatis</b>	+	+	+	+	do+	-	+	+	+

+ = positivo; - = negativo, d = positivo débil

Datos tomados de las referencias: (Guého et al., 1996; Guillot et al., 1996)

Se han propuesto otras pruebas adicionales para contribuir con la identificación de algunas especies. Entre ellas, la alta resistencia de *M. furfur* al polidocanol y la producción de pigmento en medio con triptófano (Mayser et al., 1998). También la capacidad de esta levadura de desarrollarse en medio con cremophort (aceita de castor) y la hidrólisis de la esculina (detección de  $\beta$ -glucosidasa) por *M. sympodialis* (Mayser et al., 1977).

El desarrollo de técnicas moleculares ha contribuido de manera importante a resolver las desventajas de los métodos convencionales, sin embargo estos últimos siguen siendo una alternativa válida para la identificación



de las especies en los laboratorios que no tiene acceso a una tecnología más compleja. En los últimos años se han propuesto varios métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con restricción enzimática (PCR-REA), en la amplificación al azar del ADN (RADP), en la electroforesis de campo pulsante (PFGE) y en la digestión por enzimas de restricción de productos de PCR (PCR-RFLP). Esto permite la identificación de algunas especies, basados en una sola región genómica y la detección y caracterización de mezclas en los cultivos, pero aún se busca un método certero, reproducible, simple y de bajo costo que permita la diferenciación genotípica de todas las especies hoy conocidas (Giusano, 2006).

## ***II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La Micología es un área muy activa de la Microbiología con valiosos avances en la caracterización biológica de las especies de hongos. Los progresos en el desarrollo de estrategias diagnósticas y de aproximaciones terapéuticas son también incesantes.

Además de los avances en el estudio biológico de los hongos es importante progresar en el conocimiento de su distribución epidemiológica y relevancia clínica. La identificación de su presencia en personas en áreas geográficas determinadas, su relación con la edad, sexo y estado de salud de los individuos es crítico para conseguir un adecuado diagnóstico y tratamiento precoz de sus complicaciones patológicas.

En los últimos años se han realizado estudios en diferentes entornos geográficos, raciales y socioeconómicos sobre los patrones de distribución del género *Malassezia* en individuos en estado de salud o enfermedad (**Sugita et al., 2003; Sugita et al., 2004; Gupta et al., 2004; Tarazooie et al., 2004**)

Cabe plantear que la ubicación de Venezuela con sus características geográficas y climatológicas, así como el origen étnico, costumbres y hábitos de sus pobladores, contribuyan a presentar unas características epidemiológicas diferenciales del género *Malassezia*. Se plantea que la colonización por *Malassezia* está influenciada por diversos factores como la edad, sexo, raza, localizaciones anatómicas, y estado nutricional y del sistema inmunitario del huésped.

La relevancia de este estudio además de su significación científica, radica en proveer un mejor conocimiento epidemiológico en nuestro medio y facilitar la

detección de posibles fuentes de infección para diferentes patologías tanto superficiales como sistémicas y la selección de terapias apropiadas.

## II.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar las especies del género *Malassezia* aisladas de piel sana de individuos pertenecientes a diferentes grupos de edad, sexo, hábitat y estado de salud.

## II.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Identificar las especies de *Malassezia* aisladas en piel sana de recién nacidos, niños, adolescentes, jóvenes, ancianos, niños de la etnia Añú, desnutridos y niños con SIDA.
2. Determinar las especies predominantes de *Malassezia* en piel sana de recién nacidos, niños, adolescentes, jóvenes, ancianos, niños de la etnia Añú, desnutridos y niños con SIDA, de acuerdo a la edad, sexo, localización anatómica y estados de salud.

## ***MATERIALES Y MÉTODOS***

### III.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

#### III.1.1. Tipo de diseño

Se realizó un estudio comparativo, con el objeto de caracterizar las especies de *Malassezia* aisladas de 587 individuos, sin antecedentes clínicos ni de laboratorio de presentar infecciones dermatológicas en la piel y cuero cabelludo.

#### III.1.2. Período de estudio

Esta investigación fue realizada durante el periodo comprendido entre los años 2009 y 2011

#### III.1.3. Ámbito del estudio

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de la Cátedra de Micología de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, en la ciudad de Maracaibo Estado Zulia, Venezuela.

#### III. 1.4. Selección de la población y procedencia de las mismas

Esta investigación se realizó de acuerdo a las normas propuestas en la declaración de Helsinki. El comité de ética de cada uno de los sitios a los cuales pertenecían los individuos que participaron en este estudio (Hospitales, Hogares de Cuidados Diarios, Escuelas, Liceos, Geriátricos y el comité de ética del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia) aprobaron el desarrollo de esta investigación. Todos los padres y representantes de los niños seleccionados firmaron un informe de consentimiento luego de explicarle el propósito del estudio. (Anexo N° 1).

A todos los participantes en esta investigación se les realizó una evaluación clínica para confirmar que no presentaran infecciones dermatológicas en piel y cuero cabelludo. Esta evaluación fue realizada por el mismo Médico para mantener un criterio uniforme. Los datos personales, epidemiológicos, clínicos y de interés para esta investigación de cada uno de los individuos estudiados fueron registrados en un formato codificado de recolección de datos (Anexo N° 2). Se trabajó con poblaciones intactas (**Campell et al., 1979**), a excepción del grupo de los jóvenes que se incluyó solo el 10% de la población. El número total de individuos que participaron en este estudio fue de 587, los cuales que fueron categorizados de la siguiente manera:

Recién nacidos: Se seleccionaron 98 niños recién nacidos a término de 37 a 42 semanas de gestación con peso adecuado a su edad gestacional (<http://es.wikipedia.org/wiki/pediatría>), completamente sanos, con un tiempo de nacimiento máximo de 24 horas. Se incluyeron tanto a los nacidos por parto vaginal como abdominal. 61 del sexo femenino y 37 del masculino del Hospital Central “Dr. Urquinaona” de la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

Niños: Constituido por 80 niños sanos mestizos, en la etapa de la infancia en edades de 0 a 6 años (<http://es.thefreedictionary.com/infante>). 42 del sexo femenino y 38 del masculino, pertenecientes a la Unidad Educativa Colegio Altamira de la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

Adolescentes: Formado por 100 individuos sanos, en un período de desarrollo biológico, psicológico, sexual y social, inmediatamente posterior a la niñez y que comienza con la pubertad, en edades de 12 a 18 años (<http://es.wikipedia.org/wiki/adolescencia>). 50 del sexo femenino y 50 del masculino, del Liceo Baralt de la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia.

Jóvenes: Se considero la tapa de la vida que comprende entre los 19 y 25 años. (<http://www.aspsique.com/wiki/desajoven>). De un total de 551 jóvenes de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina de La Universidad del Zulia, se seleccionaron al azar el 10 % de la población total, 56 jóvenes, 35 femeninos y 21 masculinos.

Ancianos: Se encuentran dentro de los parámetros de lo que se considera tercera edad o población de personas mayores con edades que oscilan entre los 65 y 70 años para arriba. (<http://www.definicionabc.com/general/ancianos.php>). Se analizaron un total de 100 ancianos residenciados en dos geriátricos de la ciudad de Maracaibo del Estado Zulia. 48 pertenecientes a la Fundación “Madre Teresa de Calcuta” y 52 a la casa hogar “Mano de Dios”. En edades entre 60 a 89 años, 57 femeninos y 43 masculinos.

Niños de la etnia Añu: Niños de la población indígena Añu del Estado Zulia, considerado el cuarto grupo aborigen más importante de Venezuela (**Amodio, 2005**). También son conocidos como “Paraujanos” (hombres que viven en las aguas), pertenecen a la familia lingüística Arawak. Su lengua también se denomina Añu. Desde tiempos ancestrales se ubican en la Laguna de Sinamaica, Municipio Guajira al norte del estado Zulia. Venezuela (**Maydé et al., 2008**). Para este estudio se incluyeron un total de 25 niños Añu, en edades de 0 a 6 años, 14 del sexo femenino y 11 del masculino, de la Unidad Educativa Bartolomé Duarte de la Laguna de Sinamaica, Municipio Guajira del Estado Zulia. Para la selección de los niños a participar en este estudio se consideró que fueran descendientes de abuelos y padres Añu.



Para la toma de la muestra y el estudio clínico de los niños, se trasladó un personal técnico y profesional y equipos hasta la comunidad de la Laguna de Sinamaica a tres horas de la ciudad de Maracaibo, para lo cual se utilizaron vehículos y canoas para atravesar la Laguna de Sinamaica y llegar a la Unidad Educativa, en la cual se encontraban los niños.

Niños desnutridos: Se evaluaron 102 niños provenientes de diferentes Hogares de Cuidado Diarios, Centros de Atención Integral en Nutrición, Salud, Cuidado y Socialización para hijos de madres trabajadoras (financiados por el Gobierno Regional de la Ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela); a los cuales se les realizó una evaluación nutricional integral a través de la interrelación de los indicadores del estado de nutrición: antropométricos, clínicos y dietéticos, realizados por especialistas en el área de pediatría y nutrición, que permitió diagnosticar a 48 niños con desnutrición crónica. Este grupo de niños sin lesiones en piel y en edades comprendidas entre 0 a 6 años, 15 del sexo femenino y 33 del masculino con condición socioeconómica comparable, pertenecientes a familias de bajos ingresos (estratos IV y V) según método de Graffar modificado, **(Méndez-Castellano, 1986)**, formaron parte de la población a estudiar en esta investigación.

Evaluación Nutricional Integral: La condición nutricional en este grupo de niño se evaluó de manera integral a través de la interrelación de los indicadores del estado nutricional. La evaluación antropométrica se llevó a cabo utilizando las variables: edad, peso y talla, las cuales al ser relacionadas entre sí permiten conocer los indicadores nutricionales de dimensiones corporales: peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E), peso para la talla (P/T), índice de masa corporal (IMC) e índice de Mac Laren. Para la estimación del déficit nutricional se utilizó un método recomendado por la Organización Mundial de la

Salud (OMS), por su capacidad para determinar el estado nutricional como es el Z score y las desviaciones score (DS), el cual muestra el número de desviaciones estándar por debajo o por encima del valor medio de referencia Z ( $<-2$  para niños desnutridos y  $>$  para normales) (Dibley et al., 1987; WHO, 1999).

Niños con SIDA: Se realizó un estudio a 80 niños con un diagnóstico confirmado de infección por el virus de inmunodeficiencia humana a través de pruebas de laboratorio, según algoritmo de la Organización Mundial de la Salud (Fernández et al., 2009) y sin infecciones dermatológicas en piel y cuero cabelludo. En edades comprendidas entre 0 a 6 años, 38 del sexo femenino y 42 del masculino; los cuales asistían a la consulta de la Fundación INNOCENS del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM), Estado Zulia. Dicha Institución es una organización no gubernamental sin fines de lucro creada en Junio de 1994, dedicada a la prevención de la infección del VIH/SIDA y al tratamiento integral del niño y de la madre que sufren dicha enfermedad, para lo cual cuenta con recursos y programas específicos.

#### III.1.5. Criterios de inclusión utilizados para la selección de la población.

- 1.- Se incluyeron individuos sanos, sin enfermedades dermatológicas seis meses previos a la toma de las muestras.
- 2.- Los recién nacidos, eran niños a termino, con peso adecuado a su edad gestacional completamente sanos, con un tiempo de nacimiento máximo de 24 horas. Se incluyeron tanto a los nacidos por parto vaginal como abdominal.
- 3.- Se incluyeron para este estudio los niños sanos de la etnia Añu, descendientes de padres y abuelos Añu.

4.- En el grupo de los niños desnutridos se incluyeron aquellos que fueron clasificados como desnutrición crónica, sin ninguna manifestación clínica de otra enfermedad.

5.- Los niños con SIDA tenían que tener diagnóstico confirmado de infección por el virus de inmunodeficiencia humana a través de pruebas de laboratorio, según algoritmo de la Organización Mundial de la Salud y sin infecciones dermatológicas en piel y cuero cabelludo y cualquiera otra.

### III. 1.6. Criterios de exclusión.

1. Todos los individuos con infecciones dermatológicas como pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica, foliculitis, dermatitis atópica, psoriasis, acné vulgaris entre otras.

2.- Se excluyeron los pacientes que recibieron tratamientos con antibióticos o antimicóticos (o ambos) tres meses previos a la toma de las muestras.

## III.2. RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

### III.2.1. Recolección de las muestras

Las muestras de piel de los pacientes en estudio, se tomaron de sitios anatómicos como: cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda, empleando el método de la impronta con cinta adhesiva transparente (**Rodriguez et al., 2005; Rippon, 1998**) de cada una de las regiones en estudio se obtuvo cuatro muestras, con una se realizó un examen directo adhiriendo a una lámina portaobjeto y posteriormente se coloreó con Azul de Metileno al 0,25 %

observándose al microscopio con objetivo de 40X con la finalidad de observar Blastoconidias de forma y tamaño variable del género *Malassezia*. Con las otras cintas se procedió a realizar los cultivos, colocando las cintas con la impronta en dos placas de Petri con el medio Dixon Agar con cloranfenicol y una con Sabouraud Dextrosa agar, esterilizados (15 lb. durante 15 min.) y se incubaron a 32 °C por 7 días.

Las placas que no presentaron crecimiento característico de *Malassezia* se reportaron como negativas a los 14 días. Las colonias compatibles con *Malassezia spp* se subcultivaron en medio Dixon Agar con cloranfenicol en tubos, por duplicado, debidamente identificados.

### III.2.2. Identificación de las cepas

Las especies de *Malassezia* se tipificaron en base a sus características macro- y micro morfológicas y a sus propiedades fisiológicas, según la metodología propuesta por Guillot et al (1996). El estudio macro-morfológico se llevo a cabo tomando en cuenta la consistencia, aspecto y color de las colonias. Para el estudio micro morfológico se realizó un montaje de las colonias con Azul de Metileno al 0,25 %, que permitió la coloración de las estructuras, en la observación microscópica se consideró el tamaño y la forma de las blastoconidias. Para las determinaciones fisiológicas y bioquímica se realizaron la prueba de la Catalasa, determinación de los requerimientos de lípidos a diferentes concentraciones, Tween 20, 40, 60 y 80 y la utilización de Triptófano como única fuente de nitrógeno (Guillot et al., 1996; Crespo et al., 2008; Aspiroz et al., 1999; Shans et al., 2004).

### III.2.3. Estudios Fisiológicos

Se inicia con el test de la catalasa el cual se fundamenta en determinar la presencia de esta enzima en los microorganismos que presentan citocromo, dicha enzima descompone el peróxido de hidrogeno desprendiendo oxígeno, se realiza en un portaobjeto un extendido con la levadura a identificar, agregando una gota de peróxido de hidrogeno de 10 volúmenes, la producción de gas implica resultado positivo, indicando que se debe continuar el esquema general de identificación de *Malassezia* (Guillot et al., 1996; Padilla, 2005) *M. restricta* es la única especie del género catalasa negativa, por lo que es recomendable practicar esta sencilla prueba con todas las colonias sospechosas (Guillot et al., 1996).

El test de asimilación de Tween utiliza aceites poliglicosilados a diferentes concentraciones, que dependiendo de los requerimientos de lípidos de cada levadura se observara crecimiento alrededor de los Tween utilizados, permitiendo la identificación fenotípica de las diferentes especies que forman parte del género *Malassezia*. Consiste en realizar una suspensión en 5 ml de agua destilada estéril con un loopful de la colonia en estudio, ajustada a  $10^5$  células/ml; vertiendo 2 ml de la suspensión en una placa de Petri estéril para luego incorporar 16 ml del medio de Sabouraud convencional licuado, cuidando que la temperatura no exceda los 50 °C. Se mezcla y se deja solidificar y se practican 4 pozos de 2 mm de diámetro con un sacabocado en el sentido de las agujas del reloj, marcando con un rotulador en el dorso de la placa. A continuación se llena cada pozo con 5 µl de Tween 20, 40, 60 y 80 respectivamente. Se incuba la placa a 32 °C durante 7 días. El desarrollo o

precipitación de las levaduras alrededor de cada uno de los pozos indica resultado positivo (Guillot et al., 1996; Padilla, 2005).

#### III.2.4. Estudio Bioquímico

*M. sympodialis* presenta positividad para los tween 20, 60 y 80 normalmente, pero existen algunas cepas que asimilan los tween 20, 40, 60 y 80 al igual que *M. furfur*, razón por la cual es necesario realizar la prueba del triptófano para diferenciarlas. Las cepas compatibles con estas dos especies se inocularon en medio de Dixon con triptófano, constituido por 3,6 % de extracto de malta, 2,0 % de Ox-bile, 1,0 % de Tween 40, 0,2 % de glicerol, 0,2 % de ácido oleico, 0,05 % de cloranfenicol, 0,5 % de cycloheximide y 1,2 % de agar. Una vez esterilizado (15 lb. por 15 min) y enfriado se le adiciona L-triptófano en una concentración del 0,6 %. Se incubó a 32 °C durante 7 días. El agar que presenta L- triptófano permite la utilización de este como única fuente de nitrógeno, el apareamiento de un pigmento marrón en el medio indica la presencia de *M. furfur* (Shams et al., 2004).

### III.3. ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

#### III.3.1. Descripción de las variables de la base de datos

##### III.3.1.1. Variables generales

1. Número de historia: Creada para el control, manejo e identificación de los individuos participantes en el estudio.
2. Identificación de los individuos: Conformada por los nombres y apellidos de cada individuo.

3. Fecha: Día, mes y año en el cual fue recolectada la muestra a cada individuo.

#### III.3.1.2. Variables de grupo:

Los datos recogidos se tabularon en una base de datos como variables cualitativas y cuantitativas con los siguientes valores:

##### III.3.1.2.1. Variables cualitativas

Sexo: F = Femenino y M = Masculino

Localizaciones anatómicas

CC = Cuero Cabelludo

PA = Pabellón Auricular

PE = Pecho

ESP = Espalda

##### III.3.1.2.2. Variables cuantitativas

Edad: Expresada en años en todas las poblaciones estudiadas a excepción de la de los niños recién nacidos que se consideró en horas de nacidos.

Presencia de *Malassezia*: Número de individuos que se les aisló *Malassezia*

Ausencia de *Malassezia*: Número de individuos que no se les aisló *Malassezia*.

Aislados de especies de *Malassezia*: Número de veces

que se le aisló a un individuo una especie de *Malassezia*.

#### III.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se presentaron como cifras absolutas y en porcentajes. El análisis estadístico de la información se realizó a través de la prueba ji cuadrado de independencia en el caso de tablas de contingencias (2 por k) o (j por k), para evaluar asociación entre las variables nominales involucradas. Considerando el estadístico de la prueba de  $X^2$  significativo si el valor de  $p < 0,05$ .

Las tablas de frecuencias fueron validadas utilizando la prueba de bondad del ajuste entre las frecuencias observadas y esperadas según la teoría de las probabilidades (test multinominal de ji cuadrado). Aquellas tablas que contenían varias celdas ceros o información faltante se soportaron con representaciones gráficas de barras simples, múltiples y dobles. (Morales et al., 2008)

Para el análisis se utilizó el paquete estadístico Statistix, versión 9, de la NH-Analytical software. Tallahave. 2009.

#### III.5. BÚSQUEDA BIBLIOGRAFICA

La principal fuente de información fue la base de datos MEDLINE, accesible en la siguiente dirección <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Se trata de la base de datos más completa, fiable y rigurosa de que se dispone en Biomedicina, de gran cobertura y bien estructurada. La búsqueda se realizó mediante la introducción de palabras claves en inglés, seleccionando los artículos de las revistas de mayor impacto dentro del tema que nos ocupa. En algunos casos se realizó introduciendo el nombre del primer autor del artículo relacionado con el tema en estudio, revisando sus publicaciones hasta la actualidad.



#### ***IV. RESULTADOS***

Con el fin de evaluar el impacto que ejerce el entorno geográfico, edad, sexo, localización anatómica, y estado de salud sobre la colonización de la piel sana por especies del género *Malassezia*, se estudiaron 587 individuos sin antecedentes clínicos ni de laboratorio de presentar infecciones en la piel.

Se solicitó la colaboración voluntaria de cada uno de los individuos incluidos en esta investigación, luego de explicarles el propósito y procedimiento experimental de las muestras obtenidas. En el caso de los menores de edad, previo a su inclusión en este estudio los padres o representantes de los participantes firmaron un informe de consentimiento. Se cumplió con las normas propuestas en la declaración de Helsinki y los procedimientos éticos para la toma de muestra en humanos según directrices del comité de ética del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia, entidad que conoció y aprobó el desarrollo de este trabajo.

Las muestras obtenidas fueron cotejadas en edad, sexo, especies aisladas y localizaciones anatómicas. Los resultados de esta investigación presentan al inicio una tabla con el análisis demográfico de los individuos que participaron en este estudio. En segundo término, se exponen los resultados obtenidos en las poblaciones estudiadas mediante tablas.

**TABLA 3.** Características demográficas de los grupos de individuos estudiados de la población del Estado Zulia.

Descripción de la población	Sexo		Población total estudiada	Edad
	Femenino	Masculino		
Recién nacidos	61	37	98	24 hora de nacido
Niños	42	38	80	0 – 6 años
Adolescentes	50	50	100	12 – 18 años
Jóvenes	35	21	56	19 – 25 años
Ancianos	57	43	100	60 – 89 años
Niños de Etnia Añú	14	11	25	0 – 6 años
Niños Desnutridos	15	33	48	0 – 6 años
Niños con SIDA	38	42	80	0 – 6 años
<b>TOTAL</b>	<b>312</b>	<b>275</b>	<b>587</b>	

#### IV.1. Comparación de los resultados obtenidos entre las diferentes poblaciones sanas estudiadas

En el presente estudio con la finalidad de conocer la colonización de *Malassezia* spp. como flora normal de piel sana, se compararon los resultados obtenidos en las diferentes poblaciones evaluadas y se observó que de 434 personas sanas estudiadas a 206 (47,5 %) se les aisló *Malassezia* spp. y 228 no presentaron aislamientos.

TABLA 4. Muestra la distribución de individuos sanos positivos a *Malassezia* spp. por grupos etarios. Se encontró el mayor número de individuos positivos en los ancianos 82 (82.0 %), seguido por adolescentes con 80 (80.0 %) y niños con 24 (30.0 %). Se observó que existe una asociación significativa entre los grupos con una tendencia lineal significativa en la distribución de los aislamientos en cada grupo ( $p < 0,05$ ).

**TABLA 4.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia* spp, según grupos etarios.

Población	Individuos		
	Positivos n (%)	Negativos n (%)	Total n (%)
<b>Recién nacidos</b>	5 (5.1)	93 (94.9)	98 (100)
<b>Niños</b>	24 (30.0)	56 (70.0)	80 (100)
<b>*Adolescentes</b>	80 (80.0)	20 (20.0)	100 (100)
<b>Jóvenes</b>	15 (26.8)	41 (73.2)	56 (100)
<b>*Ancianos</b>	82 (82)	18 (18.0)	100 (100)
<b>Total</b>	206 (47.5)	228 (52.5)	434 (100)

\* $p < 0.05$

TABLA 5. Se observa que el mayor número de individuos sanos positivos correspondió al sexo masculino 118 (57.3 %), de igual forma el mayor número de negativos se reportó en el género femenino. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos positivo y negativo con relación al sexo ( $p = ns$ ).

**TABLA 5.** Distribución de los individuos sanos positivos al aislamiento de *Malassezia* spp, según el sexo.

Sexo	Individuos	
	Positivos n (%)	Negativos n (%)
<b>Masculino</b>	118 (57.3)	127(55.7)
<b>Femenino</b>	88 (42.7)	101 (44.3)
<b>Total</b>	206 (100)	228 (100)

$p= ns$

TABLA 6. Al evaluar los individuos sanos positivos a *Malassezia* spp. en relación a las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas, se puede observar que espalda presenta el mayor número de aislamientos 118 (27.5 %) sin significancia estadística, en relación a pabellón auricular 116 (27.0 %), pecho 113 (26.3 %) y cuero cabelludo 82 (19.1 %).

**TABLA 6.** Distribución de los aislamientos de *Malassezia* spp. en la población sana, según localización anatómica

Localizaciones anatómicas	Aislamientos n (%)
Cuero cabelludo	82 (19.1)
Pabellón auricular	116 (27.0)
Pecho	113 (26.3)
Espalda	118 (27.5)
<b>Total</b>	<b>429 (100)</b>

p= ns

TABLA 7. Al relacionar el número de individuos sanos positivos y las especies de *Malassezia* aisladas, se objetivó que *M. furfur* fue la especie significativamente predominante en 158 (58.7 %) individuos con respecto a las otras especies *M. sympodialis* 71 (26.4 %), *M. globosa* 25 (9.3 %) y *M. slooffiae* 15 (5.6 %).

**TABLA 7.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia* en la población sana, según las especies aisladas.

Especies de <i>Malassezia</i>	Individuos positivos n (%)
<i>*M. furfur</i>	158 (58.7)
<i>M. sympodialis</i>	71 (26.4)
<i>M. globosa</i>	25 (9.3)
<i>M. slooffiae</i>	15 (5.6)
<b>Total</b>	<b>269 (100)</b>

\*p < 0.05

TABLA 8. Se observaron diferencias significativas entre las poblaciones de los individuos estudiados en relación a los aislados de *M. furfur*. El mayor número de casos positivos se encontró en los ancianos, 71 (44.9 %), seguido por adolescentes 48 (30.4 %), niños 19 (12.0 %), jóvenes 15 (9.5 %) y recién nacidos 5 (3.2 %)

**TABLA 8.** Distribución de los aislados de *Malassezia furfur* en individuos sanos, según los grupos etarios estudiados

Población	Aislados de <i>M. furfur</i> n (%)
Recién nacidos	5 (3.2)
Niños	19 (12.0)
*Adolescentes	48 (30.4)
Jóvenes	15 (9.5)
*Ancianos	71 (44.9)
<b>Total</b>	<b>158</b>

\*p < 0.05



TABLA 9. No se observó diferencias significativas entre el sexo y el número de individuos positivos a *Malassezia furfur*. En el género femenino 89 (53.3 %) sujetos positivos y en el masculino 66 (43.0 %)

**TABLA 9.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia furfur*, según el sexo

<b>Sexo</b>	<b>Individuos positivos <i>M. Furfur</i> n (%)</b>
<b>Femenino</b>	89 (53.3)
<b>Masculino</b>	69 (43.0)
<b>Total</b>	158 (100)

p= ns

TABLA 10. Al relacionar los aislamientos de *Malassezia furfur* en la población sana con las localizaciones anatómicas estudiadas, se observó una prevalencia significativa en pecho con 82 aislados (30,1 %) y en espalda con 78, (28.7 %) con respecto a las otras áreas, pabellón auricular 69 (25.4 %) y cuero cabelludo 43, (15.8 %).

**TABLA 10.** Distribución de los aislados de *Malassezia furfur* en población sana, según la localización anatómica

Localización anatómica	Aislados de <i>M. furfur</i> n (%)
Cuero cabelludo	43 (15,8)
Pabellón auricular	69 (25,4)
*Pecho	82 (30,1)
*Espalda	78 (28,7)
<b>Total</b>	<b>272 (100)</b>

\*p<0.05

TABLA 11. No se objetivo diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas y el número de individuos positivos a *M. sympodialis*. Observándose aislamientos solo en los grupos de los adolescentes 48 (67.6 %) y en el de los ancianos 23 (32.4 %).

**TABLA 11.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia sympodialis*, según grupos etarios

<b>Población</b>	<b>Individuos positivos n (%)</b>
<b>Recien nacidos</b>	0
<b>Niños</b>	0
<b>Adolescentes</b>	48 (67.6)
<b>Jóvenes</b>	0
<b>Ancianos</b>	23 (32.4)
<b>Total</b>	71 (100)

p= ns

TABLA 12. Se aprecia que el sexo femenino presentó un mayor número de aislamientos de *M. sympodialis* 40 (56.3), sin significancia estadística con respecto al masculino 31 (43.7).

**TABLA 12.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia sympodialis*, según el sexo

Sexo	Individuos positivos <i>M. sympodialis</i> n (%)
Femenino	40 (56.3)
Masculino	31 (43.7)
Total	71 (100)

p= ns

TABLA 13. No se observaron resultados significativos al evaluar el número de individuos positivos a *M. sympodialis* en relación a las localizaciones anatómicas. Pabellón auricular 32 (28.3 %), espalda 30 (26.5%), pecho 27 (23.9 %) y cuero cabelludo 24 (21.2 %).

**TABLA 13.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia sympodialis*, según localización anatómica

Localización anatómica	Individuos positivos <i>M. sympodialis</i> n (%)
Cuero cabelludo	24 (21.2)
Pabellón auricular	32 (28.3)
Pecho	27 (23.9)
Espalda	30 (26.5)
<b>Total</b>	<b>113 (100)</b>

p= ns

TABLA 14. No se observaron diferencias significativas entre el número de individuos sanos positivos a *M. globosa* y las poblaciones estudiadas. Los ancianos presentaron el mayor número de individuos positivos 8 (53.3 %), seguidos de los niños 6 (40.0 %) y adolescentes 1 (6.7 %).

**TABLA 14.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia globosa*, según grupos etarios

<b>Población</b>	<b>Individuos positivos n (%)</b>
<b>Recién nacidos</b>	0
<b>Niños</b>	6 (40.0)
<b>Adolescentes</b>	1 (6.7)
<b>Jóvenes</b>	0
<b>Ancianos</b>	8 (53.3)
<b>Total</b>	15 (100)

p= ns

TABLA 15. No se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el número de individuos positivos a *M. globosa* y el sexo de los individuos estudiados, el género masculino 9 (60.0%) y el femenino 6 (40.0%)

**TABLA 15.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia globosa*, según el sexo

Sexo	Individuos positivos <i>M. globosa</i> n (%)
Femenino	6 (40.0)
Masculino	9 (60.0)
Total	15 (100)

p= ns

TABLA 16. Cuero cabelludo, pabellón auricular y espalda presentaron el mismo número de sujetos positivos a *M. globosa* 4 (26.7 %) respectivamente y pecho 3 (20.0 %). No encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las localizaciones anatómicas estudiadas y el número de individuos positivos a *M. globosa*.

**TABLA 16.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia globosa*, según localización anatómica

Localización anatómica	Individuos positivos <i>M. globosa</i> n (%)
Cuero cabelludo	4 (26.7)
Pabellón auricular	4 (26.7)
Pecho	3 (20.0)
Espalda	4 (26.7)
<b>Total</b>	<b>15 (100)</b>

p= ns



TABLA 17. No se observaron diferencias significativas entre las poblaciones estudiadas y el número de individuos positivos a *M. slooffiae*. Solo se obtuvo aislamientos en el grupo de los ancianos 22 (88.0 %) y en el de los niños 3 (12.0 %).

**TABLA 17.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia slooffiae*, según grupos etarios

<b>Población</b>	<b>Individuos positivos n (%)</b>
<b>Recien nacidos</b>	0
<b>Niños</b>	3 (12.0)
<b>Adolescentes</b>	0
<b>Jóvenes</b>	0
<b>Ancianos</b>	22 (88.0)
<b>Total</b>	25 (100)

p= ns

TABLA 18. El mayor número de aislados a *M. slooffiae* correspondió al sexo femenino 15 (60.0 %) y el menor al masculino 10 (40.0 %), no encontrándose diferencias significativas.

**TABLA 18.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia slooffiae*, según el sexo

Sexo	Individuos positivos <i>M. slooffiae</i> n (%)
Femenino	15 (60.0)
Masculino	10 (40.0)
Total	25 (100)

p= ns

TABLA 19. Se objetivo que no hubo diferencias significativas entre la distribución de los aislados a *Malassezia slooffiae* y las localizaciones anatómicas. Cuero cabelludo y pabellón auricular 10 (35.7 %) aislados respectivamente, pecho 5 (17.9 %) y espalda 3 (10.7 %).

**TABLA 19.** Distribución de los individuos sanos positivos a *Malassezia slooffiae*, según localización anatómica

Localización anatómica	Individuos positivos <i>M. slooffiae</i> n (%)
Cuero cabelludo	10 (35.7)
Pabellón auricular	10 (35.7)
Pecho	5 (17.9)
Espalda	3 (10.7)
<b>Total</b>	<b>28 (100)</b>

p= ns

## IV.2. NIÑOS DE LA ETNIA AÑÚ

A objeto de conocer la prevalencia de las especies de *Malassezia* como flora normal de piel sana de poblaciones autóctonas, se estudiaron 25 niños de la etnia Añu en edades de 0 a 6 años, 14 del sexo femenino y 11 del masculino, de la Unidad Educativa Bartolomé Duarte de la Laguna de Sinamaica, Municipio Guajira del Estado Zulia. De los 25 niños descendientes de abuelos y padres Añu, a 19 (76 %) se les aisló *Malassezia spp.*

TABLA 20. No se observó relación significativa entre el número de niños Añu positivos a *Malassezia spp.* y el sexo, se apreció que en el género femenino hubo 10 (52.6 %) individuos positivos y en el masculino 9 (47.4 %).

**TABLA 20.** Distribución del número de niños Añu positivos a *Malassezia spp.*, según el sexo

Sexo	Niños positivos n (%)
Femenino	10 (52.6)
Masculino	9 (47.4)
<b>Total</b>	<b>19 (100)</b>

p= ns

TABLA 21. En los niños Añu se aislaron dos especies, *M. furfur* con un predominio significativo de 19 (82.6 %) niños positivos en comparación con *M. sympodialis* con 4 (19.4 %).

**TABLA 21.** Distribución del número de niños Añu positivos según las especies de *Malassezia*

Espece de <i>Malassezia</i>	Niños positivos n (%)
<i>*M. furfur</i>	19 (82.6)
<i>M. sympodialis</i>	4 (19.4)
<b>Total</b>	<b>23 (100)</b>

\*P<0.05

TABLA 22. Los niños Añu presentaron aislamientos de *Malassezia* spp. en todas las localizaciones anatómicas estudiadas, sin significancia estadística el mayor número de aislados se observó en pabellón auricular con 17 (30.9 %) aislamientos, seguida por espalda y pecho con 13 (23.6 %) respectivamente y cuero cabelludo 12 (21.8 %).

**TABLA 22.** Distribución de los aislamientos de *Malassezia* spp. en los niños Añu, según localización anatómica

Localización anatómica	Aislamientos n (%)
Cuero cabelludo	12 (21.8)
Pabellón auricular	17 (30.9)
Pecho	13 (23.6)
Espalda	13 (23.6)
<b>Total</b>	<b>55 (100)</b>

p= ns

TABLA. 23 Se objetivo diferencias significativas al comparar el número de niños Añu positivos a *Malassezia* spp. 19 (76.0 %) con los de los niños mestizos 24 (30.0 %)

**TABLA 23.** Comparación entre los niños Añu positivos a *Malassezia* spp. con la población de los niños mestizos

Poblaciones	Positivos n (%)	Negativos n (%)	Total n (%)
Niños Añu	*19 (76.0)	6 (24.0)	25 (100)
Niños mestizos	24 (30.0)	56 (70.0)	80 (100)

\*p<0.05

TABLA 24. No se observó relación significativa entre el número de niños Añu positivos a *Malassezia* spp. y la población de infantes mestizos según el sexo de los niños estudiados, el género femenino de los Añu 10 (52.0 %) niños positivos, el masculino 9 (47.4 %) y en los mestizos 16 (66.7 %) en el femenino y 8 (33.3 %) en el masculino.

**TABLA 24.** Comparación entre los niños Añu positivos a *Malassezia* spp. con la población de los niños mestizos, según el sexo.

<b>Sexo</b>	<b>Niños Añu n (%)</b>	<b>Niños mestizos n (%)</b>
<b>Femenino</b>	10 (52.6)	16 (66.7)
<b>Masculino</b>	9 (47.4)	8 (33.3)
<b>Total</b>	19 (100)	24 (100)

p= ns



TABLA 25. No se encontraron diferencias significativas al comparar los aislamientos positivos entre los niños Añu y los mestizos en relación a las especies de *Malassezia* aisladas. *M. furfur* fue la especie con mayor número de aislados en ambas poblaciones 19 niños positivos respectivamente, seguida por *M. globosa* 6 (21.4%) en la población de mestizos, *M. sympodialis* 4 (17.4%) en niños Añu y *M. slooffiae* 3 (10.7 %) en niños mestizos.

**TABLA 25.** Comparación entre las especies de *Malassezia* aisladas en los niños Añu con la de la población mestiza

<b>Especies de <i>Malassezia</i></b>	<b>Niños Añu positivos n (%)</b>	<b>Niños mestizos positivos n (%)</b>
<i>M. furfur</i>	19 (82.6)	19 (67.8)
<i>M. sympodialis</i>	4 (17.4)	0
<i>M. globosa</i>	0	6 (21.4)
<i>M. slooffiae</i>	0	3 (10.7)
<b>Total</b>	<b>23 (100)</b>	<b>28 (100)</b>

p= ns

TABLA 26. La localización anatómica con mayor número de colonización a *Malassezia* fue pabellón auricular con 17 (30.9 %) aislados, seguida por pecho y espalda con 13 (23.6 %) aislamientos para cada una y cuero cabelludo 12 (21.8 %). En los niños mestizo se observó en espalda 11 (30.6 %) casos positivos, cuero cabelludo 10 (27.85 %), pabellón auricular 8 (22.2 %) y pecho 7 (19.4 %). No se encontraron diferencias significativas al comparar ambas poblaciones

**TABLA 26.** Comparación entre los niños Añu positivos a *Malassezia* spp. con la población de los niños mestizos, según la localización anatómica

Localización anatómica	Niños positivos	
	Añu n (%)	Mestizos n (%)
<b>Cuero cabelludo</b>	12 (21.8)	10 (27.8)
<b>Pabellón auricular</b>	17 (30.9)	8 (22.2)
<b>Pecho</b>	13 (23.6)	7 (19.4)
<b>Espalda</b>	13 (23.6)	11 (30.6)
<b>Total</b>	55 (100)	36 (100)

p=ns

## IV.3. NIÑOS DESNUTRIDOS

A fin de conocer la colonización de la piel sana por especie de *Malassezia* spp. en niños con desnutrición crónica, se estudiaron 48 desnutridos, 15 del sexo femenino y 33 del masculino, en edades comprendidas entre 0 a 6 años. 32 de ellos resultaron positivos a *Malassezia* spp. lo cual representó el 66,7 % de la población analizada.

TABLA 27. Al relacionar el número de desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con el sexo de esta población, se observaron diferencias significativas, el género masculino con un mayor número de individuos positivos 26 (81.3 %) en relación al femenino 6 (18.8 %).

**TABLA 27.** Distribución del número de niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp, según el sexo.

SEXO	Desnutridos	
	Positivos n (%)	Negativos n (%)
<b>*Masculino</b>	26 (81.3)	7 (43.75)
<b>Femenino</b>	6 (18.8)	9 (56.25)
<b>Total</b>	32 (100)	16

\*P<0.05

TABLA 28. Se observa que en los niños desnutridos *M. furfur* obtuvo un predominio significativo de infantes positivos 32 (91.4 %) en relación a *M. slooffiae* 3 (8.6 %).

**TABLA 28.** Distribución del número de niños desnutridos positivos, según las especies de *Malassezia*

Especie de <i>Malassezia</i>	Desnutridos positivos n (%)
<i>*M. furfur</i>	32 (91.4)
<i>M. slooffiae</i>	3 (8.6)
<b>Total</b>	<b>35 (100)</b>

\*P<0.05

TABLA 29. Los niños desnutridos presentaron colonización por *Malassezia* spp. en todas las localizaciones anatómicas estudiadas, sin significancia estadística el mayor número de aislados se observó en cuero cabelludo con 15 (32.6 %) aislamientos, seguida por pabellón auricular 12 (26.1 %), pecho con 10 (21.7 %) y espalda 9 (19.6 %).

**TABLA 29.** Distribución de los aislamientos de *Malassezia* spp. en los niños desnutridos, según localización anatómica

Localización anatómica	Aislamientos n (%)
<b>Cuero cabelludo</b>	15 (32.6)
<b>Pabellón auricular</b>	12 (26.1)
<b>Pecho</b>	10 (21.7)
<b>Espalda</b>	9 (19.6)
<b>Total</b>	46 (100)

p= ns

TABLA 30. Al comparar el número de niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con los niños sanos. Se observó que de un total de 48 infantes desnutridos estudiados 32 (66.6 %) de ellos fueron positivos y 16 (33.3%) no presentaron aislamientos, mientras que en los sanos 24 (30.0 %) fueron positivos y 56 (70.0) negativos. Se objetivo una diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de frecuencia de aislamientos positivos en niños desnutridos comparados con aquellos sin desnutrición ( $p < 0,05$ ).

**TABLA 30.** Comparación de la positividad para *Malassezia* spp, entre niños sanos y niños desnutridos.

Aislamientos	Población de niños	
	Sanos n (%)	Desnutridos n (%)
<b>Positivo</b>	24 (30.0)	*32 (66,6)
<b>Negativo</b>	56 (70.0)	16 (33,4)
<b>Total</b>	80 (100.0)	48 (100.0)

\* $p < 0.05$

TABLA 31. Se observó un predominio significativo de niños positivos al aislamiento de *Malassezia* en el sexo masculino de los desnutridos 26 (81.3 %) al relacionarlos con los de la población sana 16 (66.7%), en el género femenino para los desnutridos se obtuvo 6 (18.8 %) positivos, mientras que para los sanos 8 (33.3 %).

**TABLA 31.** Comparación entre los niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con la población de niños sanos, según el sexo.

Sexo	Niños	
	Desnutridos n (%)	Sanos n (%)
<b>Masculino</b>	*26 (81.3)	16 (66.7)
<b>Femenino</b>	6 (18.8)	8 (33.3)
<b>Total</b>	32 (100)	24 (100)

\*p<0.05

TABLA 32. Se observa que en los niños desnutridos *M. furfur* obtuvo un predominio significativo de infantes positivos 32 (91.4 %) en comparación a los niños sanos 19 (67.9 %), en menor cantidad *M. slooffiae* con 3 (8.6 %) desnutridos positivos y en sanos *M. slooffiae* 3 (10.7 %) y *M. globosa* 6 (21.4 %)

**TABLA 32.** Comparación entre los niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con la población de niños sanos, según las especies de *Malassezia* aisladas

Especie de <i>Malassezia</i>	Niños	
	Desnutridos n (%)	Sanos n (%)
<i>*M. furfur</i>	32 (91.4)	19 (67.9)
<i>M. slooffiae</i>	3 (8.6)	3 (10.7)
<i>M. globosa</i>	0	6 (21.4)
<b>Total</b>	<b>35 (100)</b>	<b>28 (100)</b>

\*p<0.05



TABLA 33. La localización anatómica con mayor número de aislamientos para los niños desnutridos fue pabellón auricular con 21 (28.4 %) infantes positivos, seguida por espalda con 20 (27.0 %), pecho 18 (24.3 %) y cuero cabelludo 15 (20.2 %). En los niños sanos se observó en espalda 11 (30.6 %) niños, cuero cabelludo 10 (27.85 %), pabellón auricular 8 (22.2 %) y pecho 7 (19.4 %). No se encontraron diferencias significativas al comparar ambas poblaciones.

**TABLA 33.** Comparación entre los niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con la población de niños sanos, según localización anatómica

Localización anatómica	Niños	
	Desnutridos n (%)	Sanos n (%)
<b>Cuero cabelludo</b>	15 (20.2)	10 (27.8)
<b>Pabellón auricular</b>	21 (28.4)	8 (22.2)
<b>Pecho</b>	18 (24.3)	7 (19.4)
<b>Espalda</b>	20 (27.0)	11 (30.6)
<b>Total</b>	74 (100)	36 (100)

p= ns

## IV.4. NIÑOS CON SIDA.

Se estudiaron 80 niños con SIDA sin infecciones dermatológicas en piel y cuero cabelludo. En edades comprendidas entre 0 a 6 años, 38 del sexo femenino y 42 del masculino, de los cuales 21 (26,3 %) presentaron colonización por *Malassezia* spp., la única especie aislada en esta población fue *M. sympodialis*

TABLA 34. No se observaron diferencias significativas al relacionar el número de niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. con el sexo de esta población, el género femenino con 12 (57.1 %) individuos positivos y el masculino 9 (42.9 %)

**TABLA 34.** Distribución del número de niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp, según el sexo.

SEXO	Niños con SIDA	
	Positivos n (%)	Negativos n (%)
Masculino	9 (42.9)	33 (55.9)
Femenino	12 (57.1)	26 (44.1)
<b>Total</b>	<b>21 (100)</b>	<b>59 (100)</b>

p= ns

TABLA 35. Al relacionar el número de niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp con las localizaciones anatómicas estudiadas, se observó que pabellón auricular fue la región con mayor número de aislados 12 (31.6 %) sin significancia estadística con respecto a pecho 10 (26.3 %), espalda 9 (23.7 %) y cuero cabelludo 7 (18.4 %).

**TABLA 35.** Distribución de los aislamientos de *Malassezia* spp. en los niños con SIDA, según localización anatómica

Localización anatómica	Aislamientos n (%)
Cuero cabelludo	7 (18.4)
Pabellón auricular	12 (31.6)
Pecho	10 (26.3)
Espalda	9 (23.7)
<b>Total</b>	<b>38 (100)</b>

p= ns

TABLA 36. La relación entre niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. y niños sanos no arrojó diferencias significativas, en SIDA 21 (46.7 %) niños positivos y en sanos 24 (53.3 %)

**TABLA 36.** Comparación entre los niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. con los niños sanos

Población	Niños	
	Positivos n (%)	Negativos n (%)
<b>SIDA</b>	21 (46.7)	59 (51.3)
<b>Sanos</b>	24 (53.3)	56 (48.7)
<b>Total</b>	45 (100)	115 (100)

p= ns

TABLA 37. No se observó relación significativa entre el número de niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. y la población de niños sanos según el sexo de los infantes estudiados, el género femenino 12 ( 57.1 %) positivos, el masculino 9 (42.9 %) y en los sanos 16 (66.7 %) en el femenino y 8 (33.3 %) en el masculino.

**TABLA 37.** Comparación entre los niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. con la población de niños sanos, según el sexo.

Sexo	Niños	
	SIDA n (%)	Sanos n (%)
<b>Masculino</b>	9 (42.9)	8 (33.3)
<b>Femenino</b>	12( 57.1)	16 (66.7)
<b>Total</b>	21 (100)	24 (100)

p= ns

TABLA 38. Al analizar la localización anatómica se observó que el mayor número de niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. se encontró en pabellón auricular con 12 (31.6 %), seguida por pecho con 10 (26.3 %), espalda 9 (23.7 %) y cuero cabelludo 7 (18.4 %). En los niños sanos la región del cuerpo con mayor porcentaje de infantes positivos fue espalda 11 (30.6 %) seguida por cuero cabelludo 10 (27.8 %), pabellón auricular 8 (22.2 %) y pecho 7 (19.4 %). No se encontraron diferencias significativas al comparar ambas poblaciones.

**TABLA 38.** Comparación entre los niños con SIDA positivos a *Malassezia* spp. con la población de niños sanos, según localización anatómica

Localización anatómica	Niños	
	SIDA n (%)	Sanos n (%)
<b>Cuero cabelludo</b>	7 (18.4)	10 (27.8)
<b>Pabellón auricular</b>	12 (31.6)	8 (22.2)
<b>Pecho</b>	10 (26.3)	7 (19.4)
<b>Espalda</b>	9 (23.7)	11 (30.6)
<b>Total</b>	38 (100)	36 (100)

p= ns

## ***V. DISCUSIÓN***

Las levaduras del género *Malassezia* son consideradas parte de la flora normal de piel de humanos y otros vertebrados de sangre caliente (Midgley, 2000). Se han aislado en un 90 % de la piel de adultos sanos, y en un 36,3 % de la de niños. La mayoría de las especies requieren de ácidos grasos de cadena media y larga como fuente de carbono, por lo que son llamadas levaduras dependientes de lípidos (Hernández et al., 2003). La utilización de esos lípidos hace que la presencia de estos hongos sea mayor en aquellas zonas con abundancia de glándulas sebáceas como espalda, pecho, cuero cabelludo y cara (Gupta et al., 2001).

El grado de colonización y la prevalencia de las especies de *Malassezia* varían de acuerdo a la edad, sitio del cuerpo y localización geográfica (Faergman, 1983; Roberts, 1969; Faergman et al., 1980), además de estos factores se considera que las costumbres higiénicas así como las condiciones climatológicas de las áreas en donde se encuentran los individuos, posiblemente influyan en el hábitat de estas levaduras (Gupta et al., 2004).

A partir de la descripción de nuevas especies de *Malassezia*, identificadas por estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares, se han realizado investigaciones en diversas áreas geográficas, para establecer la colonización de estos hongos en individuos sanos, así como la asociación entre cada una de las especies y las diferentes patologías (Hernández et al., 2003).

Esta investigación se propone determinar el número de individuos sanos y enfermos positivos a *Malassezia* y establecer las especies predominantes en cada una de las poblaciones estudiadas y su relación con la edad, sexo y localizaciones anatómicas. Con estos resultados se pretende ampliar los conocimientos en relación al papel ecológico, epidemiológico y patológico del



género *Malassezia*.

#### V.1. Comparación de los resultados obtenidos entre las poblaciones de individuos sanos.

Existe un gran interés en conocer los patrones de colonización entre los diferentes grupos de edades de individuos sanos, en base a características como sexo y localización anatómica.

Considerando lo antes expuesto, en el presente estudio con la finalidad de conocer la colonización de *Malassezia* spp. como flora normal de piel sana, se estudiaron 434 personas sanas. Obsevándose que 206 (47,5 %) se les aisló *Malassezia* spp. y 228 (52.5 %) no presentaron aislamientos.

Al relacionar en número de individuos con aislamientos de *Malassezia* spp. con la población bajo estudio constituida por recién nacidos, niños, adolescentes, jóvenes y ancianos. Se observó que el mayor número de individuos positivos a *Malassezia* spp. correspondió al grupo de los ancianos y al de los adolescentes, resultados similares fueron reportados por Gupta et al. (2004), quienes en un trabajo realizado en individuos sanos, distribuidos en diferentes grupos etarios, encontraron una mayor colonización en los adolescentes y en los ancianos. Varios pueden ser los factores que explican este hallazgo, en primer lugar el incremento de los niveles de lípidos que ocurre en la piel durante la pubertad, lo cual aumenta la colonización por *Malassezia* (Gupta et al., 2004), en segundo lugar se ha señalado que en la edad senil la respuesta inmunitaria específica y no específica a estas levaduras disminuye, lo que podría estar influyendo en la alta colonización de *Malassezia* en este grupo etario (Ashbee et al., 2002), además los ancianos analizados en este estudio convivían en áreas que carecían de sistemas de climatización, lo que favorece la sudoración, humedad en la piel, aumento en

la actividad de las glándulas sebáceas, haciendo posible una mayor colonización de la piel sana, y por último esta población de ancianos se aplicaban ungüentos oleosos en la piel, lo que podría haber influido en la colonización de la piel por el género *Malassezia* (Martínez et al., 2010).

Muchos investigadores han evaluado la colonización de la piel sana por *Malassezia* spp y su relación con el sexo encontrando diferentes resultados. En un trabajo realizado en Bosnia y Herzegovina (Prohic A, 2005) en 20 hombres y 20 mujeres, reportaron resultados no significativos entre ambos. Igualmente en Canadá (Gupta et al., 2004) la colonización fue similar para uno u otro sexo. Marcon et al. (1992) no encontró correlación con el sexo y el aislamiento de *Malassezia*. En Venezuela Rodríguez (1999), obtuvo un predominio significativo en el sexo masculino en niños en edad escolar.

En la población de individuos sanos evaluada en este estudio, no se les observó diferencias significativas entre los sexos y el número de individuos positivos a *Malassezia*, el género masculino presentó un mayor número de individuos positivos en relación al género femenino. Esto podría atribuirse al hecho de que el hombre tiene mayor número de organismos y más biotipos que las mujeres; debido a la alta producción de sudor así como la tendencia del hombre a usar ropa más oclusiva. Otro posible factor puede ser el aumento de la producción de sebo y diferencias hormonales entre sexos (Sánchez et al., 2006).

Al relacionar los individuos sanos positivos a *Malassezia* spp. con las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas, se pudo observar que el mayor número de individuos positivos a *Malassezia* spp. 118 (27.5 %) presentaron colonización en espalda, sin significancia estadística en relación a las otras localizaciones. Resultados similares fueron reportados por Tarazooie et al. (2004)

quienes señalan no haber encontrado diferencias en la distribución de *Malassezia* en las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas en individuos sanos.

En esta investigación al analizar las especies de *Malassezia* aisladas en las diferentes poblaciones de individuos sanos, se observaron diferencias significativas, *M. furfur* fue la especie con mayor número de individuos positivos seguida por *M. sympodialis*, *M. globosa* y *M. slooffiae*. Estos datos concuerdan con los presentados en Colombia por Rincón et al. (2002) quienes encontraron una mayor frecuencia de *M. furfur* y en menor porcentaje *M. sympodialis* y *M. globosa*. Aguilera et al. (2010) en México en un estudio realizado en piel sana reportaron un predominio de *M. furfur* y luego *M. sympodialis* y *M. slooffiae*. A diferencia de los resultados obtenidos en otros estudios (Gupta et al., 2004; Martin et al., 2010) que señalan una mayor frecuencia de *M. sympodialis*.

Estudios realizados sobre la colonización de la piel sana por especies del género *Malassezia* en diversas áreas geográficas muestran resultados diferentes, en España Martín et al. (2010) y en Canadá Gupta et al. (2004) reportan *M. sympodialis* como la especie más común, en Japón Sugita et al. (2010) *M. restricta*. Midgley (2000) señala que *M. furfur* es la especie encontrada en mayor proporción en piel de individuos sanos que habitan en áreas tropicales. Estos resultados sugieren que las características geográficas y ambientales en las cuales se encuentran las personas podrían determinar la frecuencia de una u otra especie de *Malassezia* en diferentes regiones del mundo (Faegemann et al., 1980; Gupta et al., 2004).

La distribución de los aislados de *M. furfur* de acuerdo a los diferentes sitios anatómicos estudiados en las poblaciones sanas evaluadas, no mostraron diferencias significativas, encontrándose un mayor número de aislados en la

espalda, seguida de pabellón auricular, pecho y cuero cabelludo. Estos hallazgos concuerdan con lo señalado Hernández et. al. (2003) quienes afirman que en sujetos sanos *M. furfur* se aísla principalmente del tronco.

En el presente trabajo se estudio la relación de las diferentes especies de *Malassezia* aisladas en población sana con variables como la edad, sexo y localizaciones anatomicas obteniéndose diversos resultados, los cuales se exponen a continuación.

La edad ha sido considerada un factor relacionado con la cantidad de *Malassezia* presente en la piel sana, durante la pubertad hay un aumento de la actividad de las glándulas sebáceas, lo cual conduce a una mayor producción de sebo que satisface la naturaleza dependiente de lípidos de estas levaduras. Confirmándose así la importancia que tiene los cambios hormonales en la composición de los aminoácidos, lípidos, y sebo en la etapa de la preadolescencia y adolescencia en la colonización de la piel sana por especies del género *Malassezia* (Morros et al., 2002; Prohic, 2005).

En general se ha observado que la prevalencia de estas levaduras es más alta en adultos que en niños (Gupta et al., 2004), reportándose un índice de colonización de *M. furfur* muy bajo en niños sanos, siendo su aislamiento ocasional en grupos etarios de 4 a 10 años incrementándose en la pubertad; por ello es posible establecer una clara relación con la mayor actividad de las glándulas sebáceas en esa época (Bregbrant et al., 1994), decreciendo en la tercera edad (Silva et al., 1996).

En esta investigación el mayor número de individuos positivos a *M. furfur* ( $p < 0.05$ ) se presento en los ancianos y en segundo lugar en los adolescentes,

resultados similares fueron reportados por Gupta et al. (2004), quienes en un estudio realizado en individuos sanos, distribuidos en diferentes grupos etarios, encontraron una mayor colonización en los adolescentes y en los ancianos.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas al analizar la relación entre *M. furfur* y el sexo de los individuos estudiados. Varios autores han publicado no haber encontrado diferencias (Gupta et al., 2002; Marcon et al., 1992; Leeming et al., 1986). Resultados que se corresponden con los encontrados en la presente investigación, donde el número de aislamientos fue similar para ambos sexos.

La distribución de los aislados de *M. furfur* en los diferentes sitios anatómicos de las poblaciones sana estudiadas, mostró un predominio significativo, aislándose en mayor porcentaje en pecho y espalda. Resultados similares fueron publicados por Leeming et al. (1986) y por Rodríguez et al. (2005) quienes reportaron la espalda y el pecho como las regiones anatómicas más frecuentes para *M. furfur*.

En relación al estudio del aislamiento de *M. sympodialis* en las diferentes poblaciones sanas evaluadas en este trabajo, se observó que la presencia de esta levadura no fue significativa, encontrándose solo en los grupos de adolescentes y ancianos. Estos datos se corresponden con los reportados en Colombia (Rincón et al., 2002) y Mexico (Aguilera et al. 2010) quienes encontraron una mayor prevalencia de *M. furfur* y en menor porcentaje *M. sympodialis*.

En relación al análisis de los aislamientos de *M. sympodialis* según el sexo de los individuos estudiados, varios autores han publicado no haber encontrado diferencias significativas (Gupta et al., 2002; Marcon et al., 1992; Leeming et al., 1986).

Resultados que se corresponden con los observados en la presente investigación, en donde el número de aislamientos fue similar entre el género femenino y el masculino.

La distribución de *M. sympodialis* en los diferentes sitios anatómicos de la población sana estudiada reveló un mayor porcentaje de aislamientos en Pabellón auricular sin importancia estadística. Estos hallazgos difieren de los reportados por Gupta et al. (2004), quienes señalan que *M. sympodialis* en adultos se aísla con mayor frecuencia en pecho y espalda.

La tercera especie aislada en esta investigación fue *Malassezia globosa*, no presentando diferencias significativas en el número de individuos positivos en las poblaciones sanas analizadas, esta especie se encontró en mayor porcentaje en el grupo de los ancianos. Resultados que coinciden con los reportados por Martín et. al. (2010) en España, quienes aislaron *M. globosa* en adultos sanos.

No se objetivo diferencias significativas entre el número de individuos sanos positivos a *M. globosa* y el sexo de las poblaciones estudiadas. Resultados similares fueron reportados en Bosnia y Herzegovina (Prohic A, 2005) y en Canadá (Gupta et al., 2004).

El estudio de las localizaciones anatómicas y el aislamiento de *M. globosa* muestran que cuero cabelludo, pabellón auricular y espalda presentaron el mismo número de aislamientos. No encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las localizaciones anatómicas estudiadas y los aislamientos de *M. globosa*. Estos resultados difieren de los encontrados por Gupta et al. (2004), en individuos sanos donde cuero cabelludo fue el sitio anatómico más frecuente para *M. globosa*.

La cuarta especie aislada en la población sana estudiada en esta investigación fue *M. slooffiae* sin significancia estadística en relación al número de individuos positivos y a su distribución en uno y otro sexo.

En esta investigación al evaluar los resultados obtenidos entre aislamientos de *Malassezia slooffiae* y las localizaciones anatómicas de la población sana estudiada, no se observaron diferencias significativas, cuero cabelludo y pabellón auricular fueron las regiones con mayor número de aislamientos. Datos que difieren de los presentados por Gupta et al. (2004), quienes reportaron la espalda como el sitio anatómico más frecuente para *M. slooffiae*.

## V.2. NIÑOS INDÍGENAS DE LA ETNIA AÑÚ

Los pueblos indígenas de Venezuela constituyen la población originaria del País y un importante sector de la sociedad Venezolana actual, cada uno con su historia, idioma y cultura. Han experimentado transformaciones en sus culturas y a la vez, han incorporado nuevos objetos, instrumentos y palabras provenientes de otras culturas. Sin embargo, a pesar de estas transformaciones e incorporaciones, continúan en gran parte manteniendo los núcleos profundos de su ser y de su cultura (Amodio, 2005).

El cuarto grupo aborigen más importante del país está representado por los indígenas Añu. Conocidos también como “Paraujanos” (hombres que viven en las aguas). El medio ambiente lacustre, donde predominan ciénagas y mangle, caracteriza de manera general la vivencia social y cultural de este grupo étnico. La aldea Añu está constituida por varios grupos de palafitos asentados en las aguas de la Laguna de Sinamaica, relativamente cerca de la ribera, a una decena de metros los unos de los otros, unidas a veces por pasadizos de madera. El medio de transporte es la canoa (cayuco), tanto para la comunicación entre los

caseríos más alejados como con la ribera (Amodio, 2005).

La Laguna de Sinamaica esta ubicada en una zona que posee una temperatura promedio anual de 28,67 °C (máxima 31,2 °C y mínima 27,2 °C), con un promedio de humedad relativa alta de 68 % durante todos los meses del año, se ha detectado una mínima de 59 % y una máxima de 78 % (Velásquez et al., 2008).

La colonización por especies del género *Malassezia* es de aproximadamente el 90 % de la piel de los individuos sanos y parece estar influenciada por factores raciales, sexuales, genéticos y ambientales (Gupta et al., 2004), algunos datos apuntan que el principal factor que contribuye en la colonización de la piel de los recién nacidos e infantes son los ambientales (Marcon et al., 1992).

Es importante mencionar que son escasas las investigaciones realizadas sobre el aislamiento de *Malassezia* en población Añu. Los trabajos hasta ahora reportados han sido desarrollados por esta misma autora, haciéndose necesario realizar otras investigaciones que nos permitan establecer la frecuencia y distribución del género *Malassezia* y sus especies en la etnia Añu, la cual presenta condiciones raciales, económicas y geográficas diferentes al resto de la poblaciones sanas evaluadas en este estudio.

En la presente investigación se analizaron un total de 25 niños pertenecientes a la etnia Añu de la Laguna de Sinamaica, 19 (76 %) fueron positivos a *Malassezia* spp. Autores como Isa et al. (2001), Gupta et al. (2004) y Marcon et al. (1992), señalan que la colonización de la piel sana por *Malassezia* spp. esta influenciada por factores raciales, genéticos y climáticos o ambientales. Es de resaltar que las características de humedad y calor del medio ambiente en



las cuales viven estos indígenas y las condiciones precarias y reducidas de espacio de los palafitos en los cuales habitan, podrían ejercer un efecto positivo para la colonización de la piel por *Malassezia*.

Se aislaron dos especies de *Malassezia* en los niños Añu, *M. furfur* con un predominio significativo en relación a *M. sympodialis*. Resultados similares fueron encontrados en México (Aguilera et al., 2010) en niños menores de 5 años donde aislaron en mayor proporción *M. furfur* seguida de *M. sympodialis* y *M. slooffiae*. Gupta et al. (2004) afirma que *M. furfur* es más frecuente en niños y adolescentes y *M. sympodialis* en adultos sanos.

En los Añu positivos a *Malassezia* y el sexo de los niños estudiados, no se observaron diferencias significativas. Resultados que concuerdan con otros autores, Mesa et al. (2009) en una investigación realizada en recién nacidos, señala no haber obtenido diferencias significativas entre los cultivos positivos y el sexo de los grupos estudiados. En un trabajo sobre prevalencia de *Malassezia* en varios sitios del cuerpo en individuos sanos, no encontró relación entre el número de muestras positivas y el sexo de los individuos evaluados (Gupta et al., 2004).

Tomando en consideración que se ha señalado que los factores étnicos y geográficos influyen en la especie y la cantidad de levaduras aisladas de la piel sana (Martín et al., 2010); Se compararon los resultados en relación al número niños positivos a *Malassezia* spp. entre la población de los niños Añu con la de niños mestizos, la población Añu presentó un predominio significativo con respecto a la de los mestizos. Al estudiar el número de aislamientos en ambas poblaciones y relacionarlas con las localizaciones anatómicas no se objetivó una asociación estadísticamente importante. Pabellón auricular obtuvo el mayor número de aislados en los niños Añu y espalda en los niños mestizos. Resultados que

difieren de un estudio realizado en Terán Irán (Tarazooie et al., 2004), en niños en el cual el cuero cabelludo fue la localización anatómica con mayor número de aislados.

### V.3. NIÑOS DESNUTRIDOS

Se ha señalado que las deficiencias nutricionales podrían influir en la colonización de la piel sana por especies del género *Malassezia* (Carrillo et al., 2004). En niños desnutridos la carencia de ácidos grasos en la piel ocasiona que esta se vuelva seca, escamosa, delgada e inelástica, semejando a la piel de la vejez (Fitzpatrick et al., 1997).

En esta investigación se evaluaron 48 niños desnutridos de los cuales 32 (66,7 %) fueron positivos a *Malassezia*, coincidiendo con Bergbrant y Broberg (1994), quienes reportaron que la cantidad de *Malassezia* recuperada en la piel de niños fue alta (87 %). Cabe destacar que la población seleccionada para este estudio estaba representada por niños desnutridos, los cuales por la deficiencia nutricionales reflejan modificaciones en el aspecto de la piel. La mala nutrición proteica energética, es la principal causa de inmunodeficiencia en estos niños, lo que conlleva a una alta incidencia de infecciones bacterianas, parasitarias y micóticas, así como alteraciones de la flora normal de la piel (www.unicef.org, 1998). Esto podría explicar el elevado porcentaje (66,7%) de aislamientos del género *Malassezia* en la piel de los desnutridos estudiados.

En la población de los niños desnutridos se aislaron dos especie de *Malassezia*, *M. furfur* ( $p < 0.05$ ) y *M. slooffiae*. Resultados similares fueron reportados en otras investigaciones donde *M. furfur* fue la especie significativamente más frecuente (Gupta et al., 2004; Tarazooie et al., 2004; Ochoa, 2006).

Al evaluar el número de individuos positivos a *Malassezia* spp. y el sexo de la población estudiada, se observaron diferencias significativas, el género masculino con un mayor número de individuos positivos en relación al femenino. Resultados similares fueron reportados por Rodríguez (1999) quien encontró un mayor número de aislamientos en el sexo masculino en edad escolar.

Se consideró importante comparar los resultados obtenidos en los niños desnutridos con una población de niños sanos, para esto se estudiaron 80 niños con desnutrición crónica y 80 niños sanos. Al relacionar el número de niños positivos a *Malassezia* spp. entre ambas poblaciones se observó un predominio significativo en los niños desnutridos en relación a los sanos, diversos factores como climatológicos y nutricionales podrían tener un papel importante en la colonización de la piel por *Malassezia* spp. (Gupta et al., 2004). La condición de desnutrición conlleva a la inmunodeficiencia (www.unicef.org, 1998) y aunado a esto en la superficie de la piel existen una amplia gama de sustancias liposolubles, las cuales se eliminan por el sudor, las elevadas temperaturas y humedad incrementan el material sebáceo excretado aproximadamente 3 veces más de la cantidad normal (Fitzpatrick et al., 1997; Tarazooie et al., 2004), lo cual hace que la colonización de estas levaduras sea mayor. Este aumento de la actividad de las glándulas sebáceas satisface la naturaleza dependiente de lípidos de *Malassezia* (Urbina, 1997). Es importante resaltar que los niños desnutridos evaluados en esta investigación se encontraban en un clima cálido y húmedo, con ausencia de sistemas de climatización en los hogares de cuidados diarios, lo que podría explicar que la colonización de estas levaduras fuese más elevada en comparación a la población de niños sanos los cuales se encontraban en ambientes climatizados.

Al comparar la colonización de las diferentes especies del género *Malassezia* presentes en la población de niños desnutridos con niños sanos, se observó un predominio significativo de *M. furfur* en ambas poblaciones con respecto a las otras especies aisladas, resultados similares fueron reportados por Gupta et al. (2004) quienes afirman que *M. furfur* fue significativamente más frecuente en niños de 0 a 3 años.

En la relación entre niños desnutridos positivos a *Malassezia* spp. con niños sanos y las localizaciones anatómicas, no se encontraron diferencias significativas. Resultados similares fueron publicados por Tarazooie et al. (2004).

#### V4. NIÑOS CON SIDA

La superficie de la piel se encuentra colonizada principalmente por flora bacteriana y fúngica, quienes desarrollan un papel importante en la protección cutánea. La función de la barrera de la piel se establece por la interrelación de la capa cornea y la capa lipídica superficial entre el medio interno y el entorno. Ya se ha mencionado que la flora fúngica está representada principalmente por el género *Malassezia* que son organismos dependientes de lípidos que habitan en áreas ricas en glándulas sebáceas (Santamaría et al., 2002), sin embargo, puede ser modificada por diversos factores como piel grasa, exceso de transpiración o hiperhidrosis, la desnutrición, inmunosupresión y la herencia; así como, por factores exógenos como el calor y la humedad (Ochoa, 2006).

El género *Malassezia* forma parte de la flora habitual de la piel de los humanos, con capacidad para provocar infecciones sistémicas en huéspedes inmunocomprometidos (Zuiani et al., 2006). Las infecciones oportunistas han sido la principal causa de morbilidad y mortalidad de los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Barros et al., 2008).

Cabe destacar que en la literatura consultada no se encontraron trabajos sobre la identificación de especies de *Malassezia* en niños con SIDA, por lo que se podría considerar como el primero realizado en esta población, es por ello que se hace necesario continuar con estos estudios

En esta investigación se estudiaron 80 niños con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida 21 de ellos se les aisló *Malassezia* spp. Estudios en adultos muestran que la infección por VIH no predispone a que haya una colonización más abundante de *Malassezia* spp. en piel; sin embargo, la progresión a SIDA puede evidenciarse en la evolución de las lesiones cutáneas asociadas con *Malassezia* spp. (Arenas et al., 2010).

En el grupo de los niños con SIDA solo se aisló *M. sympodialis*, este hallazgo de aislarse una sola especie de *Malassezia* en la población antes mencionada, podría deberse a la mejoría inmunitaria de los niños estudiados inducida por la terapéutica antirretroviral, así como a la profilaxis con antifúngicos que se utilizan en estos pacientes (Almagro et al., 2002), impidiendo el desarrollo de otras especies de *Malassezia* nutricionalmente más selectivas y de crecimiento más lento que *M. sympodialis* (Crespo et al., 1999).

Varios autores (Gupta et al., 2004; Guého et al., 1998; Prohic, 2005) han reportado que no hay diferencias estadísticamente significativas en la colonización de la piel sana entre el sexo femenino y el masculino. Datos que concuerdan con los obtenidos en esta investigación, en la cual no se observó diferencias entre el sexo de los niños con SIDA y la presencia de *Malassezia*.

La distribución de *M. sympodialis* en los diferentes sitios anatómicos mostró un predominio no significativo en pabellón auricular, este hallazgo es similar al

reportado por Gupta et al. (2004) en niños sanos, quienes encontraron que *M. sympodialis* en infantes se aísla con mayor frecuencia en cabeza a diferencia de los adultos donde predomina en pecho y espalda.

Al estudiar la frecuencia de aislamientos de *Malassezia* en el grupo de niños con SIDA y compararla con el de los infantes sanos, No se observaron diferencias significativas. Se ha señalado que la cantidad de *Malassezia* recuperada de la piel sana de niños es muy baja, esto se debe a que tienen menor cantidad de sebo en la piel. (Gupta et al., 2004).

Se comparó las especies aisladas de *Malassezia* de la población de niños con SIDA con las recuperadas en el grupo de niños sanos, encontrándose un mayor número de aislados de *M. sympodialis* sin diferencias significativas entre ambas poblaciones. Diversos estudios señalan que *M. sympodialis* está presente con mayor frecuencia en piel sana. Por ejemplo Martín et al. (2010) en España reporta que esta especie fue aislada en más del 90 % de los individuos estudiados. Kindo et al. (2004) en la India encontró un 58,33 % de aislamientos en piel sana. En Sarajevo, Bosnia y Herzegovina Prohic (Prohic, 2005) la aisló en un 72,5 % de las muestras estudiadas. A diferencia de lo expuesto anteriormente otros autores han obtenidos resultados diferentes, así, Gupta et al. (2004) en Canadá en un grupo etario de 4 a 14 años demostró que *M. globosa* fue la especie predominante. Rendic et al. (2003) recuperaron a *M. globosa* en un 77 % en piel sana.

Cuando se realizó el análisis por sexo, se evidenció al comparar los dos grupos estudiados que no hubo diferencias, En efecto en algunos trabajos (Gupta et al., 2004; Prohic, 2005; Tarazooie et al., 2004; Mesa et al., 2009) publican no haber obtenido diferencias importantes entre sexos.

Al examinar la relación entre el número de niños con SIDA y los sanos positivos a *Malassezia* y las localizaciones anatómicas, se observó que espalda y pecho presentaron el mayor número de aislamientos sin diferencias significativas entre ambas poblaciones.

Finalmente, los resultados obtenidos en este trabajo así como los de los otros autores mencionados en esta investigación, ponen en evidencia una alta diversidad de especies de *Malassezia* colonizando la piel sana. Sin embargo, no siguen un patrón homogéneo, como para llegar a conclusiones definitivas.

El hábitat de estas levaduras podría estar influenciada por la cantidad y composición de los lípidos de la piel, costumbres higiénicas, la edad, los sitios anatómicos, factores intrínsecos (raza, genéticos) y extrínsecos (condiciones geográficas y climatológicas) (Gupta et al., 2004).

Resulta significativo destacar la importancia de continuar las investigaciones sobre estas levaduras, en piel sana y enferma en otros grupos etarios, razas y países con condiciones geográficas y climatológicas diferentes, que permitan establecer de forma definitiva los factores que influyen en su prevalencia, y evaluar su potencial patógeno.

## ***VI. CONCLUSIONES***



De este trabajo sobre la colonización por especies del género *Malassezia* de la piel sana de individuos con diferentes características demográficas del Estado Zulia de Venezuela y estados de salud, se concluye que:

1. Este hongo se aísla en la microbiota de individuos mestizos sanos de todas las edades analizadas con predominio en los ancianos y adolescentes y de forma minoritaria en recién nacidos y sin diferencias entre ambos géneros. Esta levadura se aisló en las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas (cuero cabelludo, pabellón auricular, pecho y espalda)

2. Se aislaron las especies *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa* y *M. Slooffiae* siendo *M. furfur* la predominante y con mayor presencia en adolescentes y ancianos y en la localización anatómica del tronco. *M. Sympodialis* únicamente se aisló en adolescentes y ancianos, *M. Globosa* en estos grupos etarios y también en niños y *M. sooffiae* en niños y ancianos

3. En los niños sanos de la etnia Añu la colonización por *Malassezia* esta aumentada con respecto a los mestizos sanos de similar edad, siendo la especie predominante *M. furfur* y también se observó la colonización por *M. sympodialis*

4. En los niños mestizos desnutridos la colonización por *Malassezia* esta incrementada con respecto a los sanos de similar edad, con predominio en el sexo masculino y de especie *M. furfur*

5. En los niños mestizos con SIDA se observa un patrón de colonización similar a los sanos con la excepción de ser la única especie aislada *M. sympodialis*

## ***VII. BIBLIOGRAFÍA***

1. Acton H., Panja G. Seborrheic or pityriasis capitis a lesion causal by the *Malassezia* ovale. **Indian Med Gaz.** 62: 603-14, 1927
2. Adolescentes. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/adolescencia>
3. Aguilera V., Hernández F., Padilla C. Determinación de *Malassezia* en niños menores de cinco años de edad con dermatitis atópica. Estudio comparativo con niños sanos. **Dermatología Mexicana**. 54 (3): 120-24, 2010
4. Ahearn D., Simmons R. *Malassezia* en: C.P. Kurtzman Y. Fell J.W (eds). The yeast, a taxonomic study. Editorial Elsevier. 4ª Ed. 782-84, 1998
5. Almagro M., Garcia J., Fonseca E. Manifestaciones cutáneas actuales de la infección por el VIH. **Piel**. 17: 57-67, 2002
6. Amodio E. Pautas de crianza de los pueblos indígenas, Jivi Piaroa, Ye'kuana, Añu, Wayu y Wuanto. Fondo de Naciones Unidas para la infancia, **UNICEF** 1ª Ed. Venezuela Pp. 529, 2005
7. Ancianos. Disponible en: <http://www.definicionabc.com/general/ancianos.php>
8. Arenas R., Vásquez E., Moreno G., Fernández R. Micosis superficiales en pacientes que viven con VIH-SIDA. Revisión 2010 del Consejo Nacional de Micosis Superficiales. **Dermatología Rev. Mex.** 54 (5): 259-66, 2010
9. Aschner J., Punsalang A., Maniscaleo W., Menegus M. Percutaneous central venous catheter colonization with *Malassezia furfur*: incidence and clinical significance. **Pediatrics**. 80: 535-39, 1987
10. Ashbee R., Evans G. Immunology of diseases associated with *Malassezia* species. **Clinical Microbiology**. January 2002; 15 (1): 21-57
11. Aspiroz C., Moreno L., Rezusta A., Rubio C. Differentiation of three biotypes of *Malassezia* species on human normal skin. Correspondance with *M. globosa*, *M. sympodialis* and *M. restricta*. **Mycopathologia**. 145: 69-74, 1999
12. Balleste R., Fernández N., Calejari L., Gezuela E. Pityriasis versicolor en lactantes. Ver. **Medica Uruguay**. (16): 257-60, 2000
13. Barfatani M., Munn J., Schyeide D. An ultrastructural study of *Pityrosporum orbiculare*. **J. Investg. Dermatol**. 43: 231-33, 1964

14. Barros J., Berenguer J., Gutiérrez J., Pérez M., Podzamczak D. Tratamiento de las infecciones oportunistas en pacientes adultos y adolescentes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en la era del tratamiento antirretroviral de gran actividad. **Enferm Infecc Microbiol Clin Journal** 26:356-79, 2008
15. Belee L., Testa J., Bouree P. Pityriasis versicolor in the Central African Republic: a randomized study of 144 cases. **J Med Vet Mycol.** 29: 323-30, 1991
16. Belf I., Alpert G., Slight P., Campor J. Malassezia furfur skin colonization in infancy. Infect control hosp. **Epidemiol.** 9: 151-53, 1988
17. Benham R. The cultural characteristics of pityrosporum ovale- a lipophilic fungus. **J. Invests Dermatol.** 2:187-203, 1939
18. Bergbrant I., Broberg A. Pityrosporum ovale culture from the forehead of healthy children. **Acta Derm Venereol** (Stockn). 74: 260-61, 1994
19. Berk S., Penneys N., Weinstein G. Epidermal activity in annular dermatophytosis. **Arch. Dermatol.** 112: 485-88, 1976
20. Bibel D., Aly R., Shah S., Shinefiell H. Sphingosines: antimicrobial barriers of the skin. **Acta Dermatol-Venereol.** 73: 407-11, 1993
21. Bond R., Lamport A., Lloyd D. Colonization status of Malassezia pachydermatis on the hair and in the hair follicle of healthy beagle dogs. **Res. Vet. Sci.** 68: 291-93, 2000
22. Bond R., Dodd M., Lloyd D. Isolation of Malassezia sympodialis from feline skin **J. Med. Vet. Mycol.** 34: 145-47, 1996
23. Bond R., Saijonmaa A., Koulumies L., Lloyd H. Population sizes and frequency of Malassezia pachydermatis at skin and mucosal sites on healthy dogs. **J. Small. Anim. Pract.** 35: 68-72, 1995
24. Brotherton J. The sulphur metabolism of P. ovale and its inhibition by selenium compounds. **J. Gen. Microbiol.** 49: 393-00, 1967
25. Cabañes F., Vega S., Castellá G. Malassezia ciniculi sp. nov.; a novel yeast species isolate from rabbit skin. **Medical Mycology.** 49 (1): 40-48, 2011
26. Cabañes F., Theelen B., Castella G., Boekhout T. Two new lipid-dependent Malassezia species from domestic animals.

- FEMS Yeast Res.** 7: 1064-76, 2007
27. Campell D., Stanley J. Factores que atentan contra la validez externa. En: Diseños experimentales y cuasiexperimentales en la investigación social. Amorrostu editores. Buenos Aires. 38-48, 1979
  28. Canteros C., Rivas M., Lee W., Perrota D., Bosco-Borgeat M., Davel G. Concordancia entre características fenotípicas y PCR\_REA en la identificación de species de *Malassezia*. **Rev. Iberoam Micol.** 24: 278-82, 2007
  29. Caprilli F., Mercantini M., Nazzaro-Porro. M., Paasi S., Tonolo A. Studies of the genus *Pityrosporum* in submerged culture. **Mycopathol. Mycol Appl.** 51: 171-89, 1973
  30. Carrillo J., Brio S. Género *Malassezia*. Estado de su situación como patógeno. **Activ. Dermatol.** 40: 321-29, 2004
  31. Casadevall A., Cassone F., Bistoni J., Cutler W., Magliani J., Murphy L., Polonelli A., Romani L. Antibody and/or cell mediated immunity protective mechanisms in fungal disease an ongoing dilemma or an necessary dispute? **Med Mycol** 36 (suppl. 1): 95-05, 1998
  32. Catterall M., Ward M., Jacobs P. A reappraisal of *pityrosporum orbiculare* in pityriasis versicolor and the significance of extracellular lipase. **J. Investig. Dermatol.** 71: 398-01, 1978
  33. Celis A., Cepero M. Polimorfismo genéticos de aislamientos del género *Malassezia* obtenidos en Colombia de pacientes con lesiones dermatológicas y sin ellas. **Biomédica.** Diciembre 25 (4): 481-87, 2005
  34. Coutinho S., Paula C. Proteinase, phospholipase, hyaluronidase and chondroitin sulphate production by *Malassezia pachidermatis*. **Med. Mycol.** 38: 73-76, 2000
  35. Crespo V., Delgado V. *Malassezia* species in skin diseases. **Curr of infect. Dis.** 15:133-42, 2002
  36. Crespo M., Abarea M., Cabañes F. Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolation from dogs with otitis externa. **J Clin Microbiol**, 2383-85, 2000
  37. Crespo M., Abarea M., Cabañes F. Occurrence of *Malassezia* spp. in the external ear Canals of dogs and cats with and without otitis externa. **Med. Mycol.** 40: 115-21, 2002
  38. Crespo E., Abarca M., Cabañes F. Occurrence of *Malassezia* spp. in horse and domestic

- rumiants. **Mycose**. 45: 333-37, 2002
39. Crespo E., Ojeda M., Vera A., Casaño A., Sanchez F., Guého E. Mycology of pityriasis versicolor. **J. Mycol. Med.** 9: 143-48, 1999
  40. Crespo V., Crespo M., Gómez E. Diagnóstico de laboratorio de las levaduras del género *Malassezia*. **Piel**. 23: 570-76, 2008
  41. Crespo E., Ojeda M., Vera A., Sanchez F. Aislamiento e identificación de *Malassezia* spp. en pityriasis versicolor, dermatitis seborreica y piel sana. **Rev. Iberoam Micol.** 16: 16-21, 1999
  42. Cunningham A., Ingham E., Gowland G. Humoral responses to *malassezia furfur* serovars A, B, and C in normal individuals of various ages. **Br. J. Dermatol.** 127: 476-81, 1992
  43. Davies R., Zaini F. *trichophyton rubrum* and the chemotaxis of polymorphonuclear leucocytes. **Sabouraudia**. 22: 65-71, 1984
  44. Dibley M., Staeling N., Nieburg P., Trowbrige F. Interpretation of z score antropometric indications derived from international growth reference. **Ame J. Clin. Nutri.** 46:749-762, 1987
  45. Dorn M., Roehnert K. Dimorphism of *Pityrosporum orbiculare* in defined culture medium. **J. Invest Dermatol.** 69: 244-48, 1977
  46. Duarte E., Melo M., Hahn R., Hamdan J. Prevalence of *Malassezia* spp. in the cars of symptomatic cattle and cattle with otitis in Brazil. **Med Mycol.** 37: 159-62, 1999
  47. Escobar M, Carmona J, Santamaría L. Onicomycosis por *Malassezia*. **Rev. Iberoam Micol.** 17: 69-71, 2000
  48. Estado mundial de la infancia (1998). Página Web en línea. Disponible en: [http://www.unicef.org/spanish/so wc98sp/\(10/11/05\) en: Google](http://www.unicef.org/spanish/so wc98sp/(10/11/05) en: Google).
  49. Faergemann J., Bernander S. Microaerophilic and anaerobic growth of *Pityrosporum* species **Sabouraudia**. 19: 117-121, 1981
  50. Feargman J. Quantitative variations in distribution of *Pytirosporum orbiculare* on clinically normal skin. **Acta Derm Venereal** 63: 346-4, 1983
  51. Faegmann J., Fredrikson T. Age incidence of *Pityrosporum orbiculare* on human skin. **Acta Derm Venereol** 60: 531-33, 1980
  52. Fell J., Boekhout T., Fonseca A. Biodiversity and systematics of

- basidiomycetous yeast as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **Int Syst Evol Microbiol.** 50:1351-71, 2000
53. Fernández A. La Chikanaya: enfermedad espiritual entre los Añú de la Laguna de Sinamaica. **Opcion.** 38: 31-48, 2002
  54. Fernández A., Portillo L., Caraballo C., Portillo M., Quintero J. Etnia Paraujana (Añú): modelo de etnocidio y ecocidio contemporáneo. Informe de Avance académico. División de Investigación. Departamento de Ciencias humanas. Facultad experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. 24-35, 1987
  55. Fernández A., Santana K., García Y., Rodríguez R., Vazquez J., Rodríguez O. Niveles de inmunoglobulinas G, A y M en la evolución de pacientes con virus de la inmunodeficiencia humana y sida. **Medisan.** 13 (5), 2009
  56. Fitzpatrick T., Einsen A., Wolf K., Freedberg I., Austen K. Editores. Lípidos de la epidermis de las glándulas sebáceas en: Dermatología en Medicina General. Editorial Medica Panamericana 4 ED. Tomo 2 Buenos Aires, 1997.
  57. González A., Sierra R., Cardenas M., Grajales S., Restrepo S., Cejero M., Celis A. Physiological and molecular characterization of atypical isolates of *Malassezia furfur*. **Journal of Clinical Microbiol.** January 7 (1): 48-53, 2009
  58. Gemmer M., De Angelis Y., Theelen B., Boekhout T., Dawson T. Fast, no invasive method for molecular detection and differentiation application of *Malassezia* yeast species on human skin and application of the method to dandruff microbiology. **J. Clin Microbiol.** 40: 3350-57, 2002
  59. Giusano E. *Malassezia*. Estado del conocimiento y perspectiva en su estudio. **Rev. Argentina de Microbiología.** 38 (1) Marzo: 41-48, 2006
  60. González A., Alayeto J., Juncosa T., García F., Moreno J, Latorre C. Sepsis neonatal por *Malassezia furfur*. **Rev Iberoam Micol.** 16.157-60, 1999
  61. Graves M., Camp R. Prostaglandins, leukotrienes, phospholipase, platelet activating factor and cytokines: an integrated approach to inflammation of human skin. **Arch. Dermatol.** Res. 280: 533-41, 1988
  62. Guého E., Meyer S. A reevaluation of the genus *Malassezia* by means of genome comparison. **Antonie**

- Van Leeuwenhock.** 55: 245-51, 1989
63. Guého E., Midgley G., Guillot J. The genus *Malassezia* with description of four new species. **Antonie Van Leeuwenhock.** 69: 337-55, 1996
  64. Guého E., Boekhout T., Ashbee H., Guillot J., Van Belkum A., Faergema J. The role of *Malassezia* species in ecology of human skin and pathogens. **Med Mycol.** 36 Suppl 1: 220-29, 1998
  65. Guillot J., Guého E., Lesourd M., Midgley G., Chevrier G., Dupont B. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. **J. Micol Med.** 6: 103-10, 1996
  66. Guillot J., Bond R. *Malassezia pachydermatis*: a review: **Med. Mycol.** 37: 295-06, 1999;
  67. Guillot J., Chemette R., Guého E. Prevalence du genre *Malassezia* Chez les mammifères. **J. Mycol. Med.** 4: 72-79, 1994
  68. Guillot J., Guého E., Lesourd M., Midgley G., Chéurier G., Dupnt B. Identification of *Malassezia* species. A practical approach. L. **Mycol. Med.** 6: 103-10, 1996
  69. Gupta A., Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on various body sites in clinically healthy subjects representing different age groups. **Med Mycol.** 42:35-42, 2004
  70. Gupta A., Batra R., Bluhm R., Boekhouut T., Dawson T. Skin disease associated with *Malassezia* species. **J. Am Acad. Dermatol.** 51: 785-98, 2004
  71. Gupta A., Kohli Y., Summerbell R., Faergemann J. Quantitative culture of *Malassezia* species from different body sites of individuals with or without dermatoses. **Medical Mycology.** 39 (3) Junio 01: 243-59, 2001
  72. Hammer K., Riley T. Precipitate production by some *Malassezia* species on Dixon's agar. **Medical Mycol.** 38: 105-07, 2000
  73. Hechemy K., Vanderwyk R. Isolation, purification and chemical analisis of *P. ovale* cell wall. **Bacteriol. Proc.** 68: 42-50, 1968
  74. Hernández F., Méndez L., Tovar E., Bazán E., Arévalo A., Valera A., López R. Especies de *Malassezia* asociadas a diversas dermatosis y a piel sana en población mexicana. **Revista Iberoamericana de Micología.** 20: 141-44, 2003
  75. Heymann W., Wolf D. *Malassezia* (*Pityrosporum*) folliculitis occurring during



- pregnancy. **Int. J. Dermatol.** 25: 49-51, 1986
76. Hirai A., Kano R., Makimura K., Duarte E., Hamdan J., Lachance M., Yamaguchi H., Hasegawa A. *Malassezia nana* sp. nov., a novel lipid dependent yeast species isolated from animals. **Int. J. Syst. Evol Microbiol.** 54: 623-27, 2004
  77. Hirai A., Kano R., Makimura K., Yasuda K., Konishi K., Yamaguchi H., Hasegawa A. A unique isolate of *Malassezia* from a cat. **J. Vet. Med. Sci.** 64: 957-59, 2002
  78. Isa R., Cruz A., Arenas R., Duarte Y., Linares C., Bogaert H. Pityriasis versicolor en lactantes. Estudio de 92 casos. **Rev Iberoam Micol.** 18: 109-12, 2001
  79. Ishiguro Y., Kato K., Ito T. sensitive solid phase enzyme immunoassay for human IgA, secretory IgA and secretory component. **Chin. Chim. Acta.** 116: 237-43, 1981
  80. Jóvenes. Disponible en: <http://www.aspsique.com/wiki/de-sajoven>.
  81. Juncosa T., González A., Aleyeto J., Muñoz C., Moreno J., Gené A., Latorre C. Colonización cutánea neonatal por *Malassezia* spp. **Medicina y Neonatología.** 57 (5): 452-56, 2002
  82. Kashima M., Takahashi H., Shimoizuma M., Epstein W., Fukuyama K. Candidacidal activities of proteins partially purified from rat epidermis. **Infect. Immun.** 57: 186-90, 1989
  83. Kindo A., Sophia S., Kalyani J., Anandan S. Identification of *Malassezia* species. **Indian Journal of Microbiology.** 2004; 22 (3): 179-81.
  84. Kiss G., Radványi S., Bzique G., Characteristics of *Malassezia pachydermatis* strains isolated from canine otitis externa. **Mycoses.** 39: 313-21, 1996
  85. Koyama T., Kanbe T., Ishiguro A., Kikuchi A., Tomita Y. Isolation and characterization of a major antigenic component of *Malassezia globosa* to IgE antibodies in sera of patients with atopic dermatitis. **Microbiol. Immunol.** 44:373-9, 2000
  86. Lee Y., Yim S., Lim Sh., Shoo Y., Ahn K. Quantitative investigation on the distribution of *Malassezia* species on healthy skin in Korea. **Mycoses.** sep; 49 (5): 405-10, 2006
  87. Leeming J., Notman F. Improved method for isolation and enumeration of *Malassezia*

- furfur from human skin. **J Clin. Microbiol.** 25: 2017-19, 1987
88. Leeming J., Notman F., Holland T. The distribution and ecology of *Malassezia furfur* and cutaneous bacteria on human skin. **J. Appl. Bacteriol.** 67:47-52, 1989
  89. Levy A., Salazar J., Mata M., Sandra L., Paz A., Valero K., Hernández I., Fuenmayor A. Bacterias enteropatógenas en la comunidad étnica añu de la Laguna de Sinamaica, Estado Zulia, Venezuela. **Rev Soc Ven Microbiol.** 29 (2): 84-90, 2009
  90. Lindborg M., Magnusson C., Zargari A., Schemidt M., Scheynius A., Cramer R., Whitley P. Selective cloning of allergens from the skin colonizing yeast *Malassezia furfur* by phage surface display. **J. Investig. Dermatol.** 113: 156-61, 1999
  91. Lorenzini R., Bernardis F. Studies on the isolation, growth and maintenance of *Malassezia pachydermatis*. **Mycopathologia.** 99: 129-31, 1987
  92. Lucas C., Picardo M., Breathanach A., Passi S., Lipoperoxidase activity of *Pityrosporum*: characterization of by products and possible role in Pityriasis versicolor. Exp. **Dermatol.** 5: 49-56, 1996
  93. Maydé G., Rincón M., García R., Cabrera R. Significados socioculturales de la salud/enfermedad bucal en los indígenas Añú. **Ciencia Odontológica.** 5 (1): 27-33, 2008
  94. Mancianti F., Rum A., Nardonis S., Corazza M. extracellular enzymatic activity of *Malassezia* spp. Isolates. **Mycopathologia.** 49: 131-35, 2000
  95. Marcon M., Powell D.. Human infections due to *Malassezia* spp. **Clinical Microbiology Reviews.** Apr. 101-19, 1992
  96. Marples R., Downing D., Kligman A. Influence of *Pityrosporum* species in the generation of free fatty acids in human surface lipid. **J. Investig. Dermatol.** 58: 155-59, 1972
  97. Martin M., Crespo V., Samaniego E., Gómez E. Distribución de las especies de *Malassezia* en pacientes con pitiriasis versicolor y en individuos sanos. **Piel.** 25 (10): 552-60, 2010
  98. Martínez V., Hernández F., Padilla M. Determinación de *Malassezia* en niños menores de cinco años de edad con dermatitis atópica. Estudio comparativo con niños sanos. **Dermatología Rev. Mex.** 54 (3): 120-24, 2010

99. Mayser P., Imicampe M., Papavassilis C. Growth requirements and nitrógeno metabolismo of *Malassezia furfur*. **Arch Dermatol. Res.** 290: 277-82, 1998
100. Mayser O., Haze P., Papavassilis O., Pickel M., Gruendre K., Guého E. differentiation of *Malassezia* species: selectivity of Cremophor EL, castor oil and ricin oleic from *M. furfur*. Br. **J. Dermatol.** 137: 208-13, 1977
101. Mayser O., Wille G., Imkampe A., Thomas W., Arnolds N., Monsse T. Synthesis of fluorochromes and pigments in *Malassezia furfur* by use of triptophan as single nitrogen source. **Mycoses.** 41: 265-71, 1998
102. Méndez-Castellano H. Estratificación social. Método de Graffar modificado para Venezuela. **Puer Pediatric.** 49: 93-104, 1986
103. Mesa L., González E., Rodriguez S., Robertiz S., Urdaneta O., Calvo B., Silva E., Villalobos R. Colonización por levaduras en piel sana de recién nacidos. **Kasmera.** 37(2):109-16, 2009
104. Mickelsen P., Viano P., Stevens D., Diaz P. Clinical and microbiological features of infection with *Malassezia pachydermatis* in high risk infants. **J. Infect. Dis.** 157: 1163-68, 1988
105. Midgley G. the lipophilic yeasts: state of the art and prospects. **Medical Mycology.** 38 supplement. 1: 9-16, 2000
106. Midgley G. The yeast flora of birds and mammals in captivity. **Anton. Leew. Int G.** 35: 23-24, 1969
107. Mittag H. Fine structural investigations of *Malassezia furfur* II. The envelope of the yeast cells. **Mycoses.** 38: 13-21, 1995
108. Morales G., Pino I. en: Parasitometria. Clemente editores. ca. Universidad de Carabobo impreso en Venezuela. Pp 224, 2008
109. Morishita N., Sei Y., Sugita T. Molecular analysis of *Malassezia* microflora from patients with pityriasis versicolor. **Mycopathologia.** Feb; 161 (2): 61-5, 2006
110. Morros J., González A., Ortega J., Muñoz C., Moreno A., Gene A., Latorre C. Colonización cutánea neonatal por *Malassezia* spp. **An. Esp. Pediatr.** Noviembre 5 (57): 452-56, 2002
111. Murai T., Nakamura R., Kano S., Watanabe A., Hasagawa. Differentiation of *Malassezia furfur* and *Malassezia*

- sympodialis by glycine utilization. **Mycose.** 45: 180-83, 2002
112. Nakabayashi A. Identification of causative species in Malassezia associated dermatoses. **Nippon Ishunkin Gakkai Zasshi.** 43 (2): 65-68, 2002
  113. Nakabayashi A., Sei Y., Guillot J. Identification of Malassezia species isolated from patients with seborrhoeic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. **Medical Mycology.** 38 (5) October 01: 337-45.
  114. Nazzaro-Porro. M., Passi S., Caprilli F. Introduction of hyphae in cultures in *Pytirosporum* by Cholesterol and cholesterol esters. **J. Investig. Dermatol.** 69: 531-34, 1977
  115. Nazzaro-Porro. M., Caprilli F, Morpurgo G. Growth requirements and lipid metabolism of *Pityrosporum orbiculares*. **J. Invest. Dermatol.** 66: 178-82, 1976
  116. Nazzaro-Porro M., Passi S. Identification of Tyrosinase inhibitors in cultures of *Pityrosporum*. **J. Investig. Dermatol.** 71: 205-08, 1978
  117. Nazzaro-Porro M., Breathanach A., Picardo M., Mercantini R., Breathanach A. Lipoxigenase activity of *Pityrosporum* in Vitro and in vivo. **J. Investig. Dermatol.** 87: 108-12, 1986
  118. Nell A., James S., Bond C., Hunt B., Herrtage M. Identification and distribution of a novel *Malassezia* species yeast on normal equine skin. **Vet. Rev.** 150: 395-8, 2002
  119. Niamba P., WQeill F., Sarlage J., Labreze C., Coupie B., Taïb A. Is common neonatal cephalic pustulosis (neonatal acne) triggered by *Malassezia sympodialis*? **Arch. Dermatol.** 134: 995-98, 1998
  120. Niños. Disponible en: <http://es.thefreedictionary.com/infante>
  121. Ochoa de Quinzada, M. Tesis doctoral: Estudio de las especies de *Malassezia*, relacionadas con la patología cutánea, Pityriasis Versicolor en Panamá. Universidad de Granada. Universidad de Panamá. Enero 2006
  122. Onishi Y., Kuroda M., Yasueda H., Saito A., Sono-Koyama E., Tunasawa S., Hashida-Okado T., Yagihara T., Uchida K., Yamaguchi H., Akiyama K., Kato I., Takesako K. Two-dimensional electrophoresis of *Malassezia* allergens for atópica dermatitis and isolation of mitochondrial malate dehydrogenase. **Eur. J. Biochem.** 261:148-54, 1999

123. Padilla M. Pitiriasis versicolor. **Dermatología Rev. Mex** (49): 157-67, 2005
124. Pérez M., Urbina G., Fernández G., Yegres R. Influencia de la temperatura y la humedad en la frecuencia de pitiriasis versicolor, estudio epidemiológico en el estado falcón. Venezuela. **Invest Clin.** 31: 121-28, 1990
125. Picardo M., Passi S., Sirianna M., Fiorillim M., Russo G., Cortesis E., Basile G., Breathnach A., Nazzaro-Porro M. Activity of azelaic acid on cultures of lymphoma and leukemia- derived cells lines, normal resting cells and stimulate lymphocytes and 3T3 fibroblasts, **Biochem. Pharmacol.** 34: 1657-58, 1985
126. Plotkin L., Mathov I., Squiquero L., Leoni J. Arachidonic acid released from epithelial cells by *Malassezia furfur* phospholipase A (2): A potential pathophysiologic mechanism. **Mycology.** 90:163-69, 1998
127. Prohic A. *Malassezia* yeasts as commensals on human skin. Academy of Sciences and Arts of Bosnia and Herzegovina. Department of Medical Sciences. **Center of Medicine Research** 34 (4): 107-15, 2005
128. Ran Y., Yoshike T., Ogawa H. Lipase of *M. furfur*: some proprieties and their relationship to cell grow. **J. Med. Vet. Mycol.** 31: 77-85, 1993
129. Rasool O., Zargari A., Almquist J., Eshaghi H., Whitley P., Scheynius A. Cloning, characterization and expresión of complete coding sequences of three IgE binding *Malassezia furfur* allergens, Mal f 7, Mal f 8, Mal f 9. **Eur. J. Biochem.** 267: 4355-61, 2000
130. Recién nacidos. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/pediatría>.
131. Rendic E., Diaz C., Fich F. Caracterización de especies del género *Malassezia* en pacientes con Dermatitis Seborreica y en controles. **Rev. Med. Chile.** 131 (1): 1295-00, 2003
132. Rincón S, Celis A., Cepero M. Prevalencia de especies del género *Malassezia* en aislamientos realizados en personas con y sin lesiones dermatológicas. **Infection.** 6 (2): 107, 2002
133. Rippon J. Micología Médica. Hongos y Actinomicetos patógenos. Mc Graw Hill, 1998
134. Roberts S. *Pytirosporum orbiculare*: incidence and distribution on clinically normal skin. **Br J. Dermatol.** 81: 264-69, 1969
135. Rodríguez S., Mesa L., González E., Delmonte M.,

- Robertiz S., Valero A. Caracterización fenotípica de especies de *Malassezia* en piel sana de población estudiantil universitaria. **Investigación Clínica**. 46: 329-35, 2005
136. Rodríguez S. Pityrosporum orbiculare y ovale. Prevalencia en piel sana de niños y ancianos de comunidad educativa y asilo en el estado Zulia. **Kasmera**. 18 (1-4): 71-87, 1999
137. Ruiz M. Primer consenso sobre Diagnóstico y tratamiento de Dermatitis Atópica. **Asociación Mexicana de pediatría**. México DF. 2000
138. Salkin F., Gordon M. Polymorphysm of *Malassezia furfur*. Can. **J. Microbiol**. 23: 471-75, 1977
139. Sánchez L., Sáenz E. Infecciones cutáneas bacterianas. **Dermatología Peruana**. 1 (16): 7-39, 2006
140. Sandsfrom M., Barfosik J., Back O. The prevalence of the *Malassezia* yeast in patients with atópica dermatitis, seborrheic dermatitis and healthy controls. **J. Euro Ecad. Dermatol Vemerol**. 15 (supl 2): 104-274, 2001
141. Santamaría V., Alvarado A. Flora cutánea como protección y barrera de la piel normal. **Rev. Cent. Dermatol Pascua**. 11:18-21, 2002
142. Schelman K., Tullis G., Blum R. Intracardiac mass complicating *Malassezia furfur* fungemia. **Chest**. 118: 1828-29, 2000
143. Servigna A. Casa-Cuerpo-Mundo. Trabajo especial de grado. Universidad del Zulia. Facultad experimental de ciencias. División de postgrado. Maestría en Antropología. Maracaibo, estado Zulia. 2000.
144. Shams M., Razzaghi A. Rapid identification of *Malassezia furfur* from other *Malassezia* species: a mayor causative agent of Pityriasis versicolor. **IJMS**. 29: 36-39, 2004
145. Shamusset C., Arenas R. Folliculitis por *Malassezia*. **Revista Mexicana de Dermatología**. 50 (1): 20-25, 2006
146. Silva V., Fischman O., de Camacho Z. Humoral immune response to *Malassezia furfur* in patients with pityriasis versicolor and seborrheic dermatitis. **Mycopathol**. 139: 79-85, 1997
147. Silva V., Di Tilia C., Fishman O. Skin colonization by *Malassezia furfur* in healthy children up to 15 years old. **Mycopathol**. 132:143-45, 1996
148. Sternberg T., Keddie F. Inmunofluoresce studies en



- tinea versicolor. **Arch. Dermatol.** 84: 999-03, 1961
149. Stite D., Abba I. Terr Complemento y citosina en: Inmunología Básica y Clínica. 7ma edición Capítulo 14 Michel M. Frank. 177-90, 1991
150. Sugita T., Takashima M., Shinoda T., Suto H., Unno T., Tsuboi R., Ogawa H. New yeast species, *Malassezia dermatis* isolated from patients with atopic dermatitis. **J Clin Microbiol.** 40: 1363-67, 2002
151. Sugita T., Takashima M., Kodama M., Tsuboi R., Nishikawa A. Description of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. **J Clin Microbiol.** 41 (10): 4695-99, 2003
152. Sugita T., Tajima M., Takashima M., Amaya M., Saito M., Tsuboi R., Nishikawa A. A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. **Microbiol Immunol.** 48 (8): 579-83, 2004
153. Sugita T., Suto H., Unno T., Tsuboi R., Ogawa H., Shinoda T., Nishikawa A. Molecular Analysis of *Malassezia* microflora on skin of atopic dermatitis patients and healthy subjects. **J. Clin Microbiol.** 40: 3350-57, 2001
154. Sugita T., Suzuki M., Goto S., Nishirawa A., Yamazaki K. Quantitative analysis of cutaneous *Malassezia* from microbiota in 770 healthy Japanese by age and gender using real-time PCR assay. **Med Micol.** Mar, 48 (2):229-33, 2010
155. Swiff J., Dunbar S. Ultraestructura of *Pityrosporum ovale* and *P. canis*: **Nature.** 106: 1174-75, 1965
156. Tarazooie B., Kordbache P., Zaini F., Zomorodian K., Saadat F., Zeraati H., Hallaji Z., Rezaire S. Study of the distribution of *Malassezia* species in patients with pityriasis versicolor and healthy individual in Tehran, Iran. **BmC Dermatol.** May 1; 4: 4-5, 2004
157. Thompson E., Colvin R. Composition of the cell wall of *Pityrosporum ovale* (Bizzozero) Castellani and Chalmers. **Can. J. Microbiol.** 16: 263-65, 1970
158. Urbina, O. Pityriasis Versicolor. **La micosis en Venezuela** 39: 3-5, 1997
159. Velásquez G., Herrera F., Komar N., Montañez H., Alfonso F., Rivero J. Evaluación de vectores para el Virus del Oeste del Nilo en Venezuela, utilizando VecTest™ para el

- diagnóstico rápido de mosquitos infectados. **Entomotropica**. 23 (2): 167-72, 2008
160. WHO Multicentre Growth Reference Study Group: WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva, World Health Organization. Disponible en: [http://www.who.int/childgrowth/standards/technical\\_report/en/index.html](http://www.who.int/childgrowth/standards/technical_report/en/index.html), 2006
161. Yasueda H., Hashida-okado T., Saito A., Uchida K., Kuroda M., Onichi Y., Takahashi K., Yamaguchi H., Takesako K., Akiyama K. Identification and cloning of two novel allergens from the lipophilic yeast, *Malassezia furfur*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 248: 240-244.
162. Zaitz C., Ruiz L., Souza V. Dermatitis associated with yeasts from *Malassezia* genus. *Dermatol, Rio de Janeiro*. 75 (2): 129-42, 2000
163. Zargari A., Emilson A., Hallden G., Johansson S., Scheynius A. Cell surface expression of two major allergens in the *Pityrosporum* genus. **Clin Exp.** 27: 584-592, 1997



## ***VIII. ANEXOS***

## VIII.1. INFORME DE CONSENTIMIENTO

## INFORME DE CONSENTIMIENTO

Yo \_\_\_\_\_ Cédula de Identidad N° \_\_\_\_\_

representante legal de \_\_\_\_\_, entiendo y acepto voluntariamente que se le realice una toma de piel sana, para el diagnóstico de especies de *Malassezia* como flora normal de piel. Entiendo que los datos aportados serán estrictamente confidenciales y beneficiosos para la salud de mi representado y no interferirán con el tratamiento médico establecido.

Firma del Padre o tutor legal responsable

Fecha \_\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_ Cédula de Identidad N° \_\_\_\_\_  
Certifico que explico claramente al padre o tutor los procedimientos Micológicos a realizar, logrando su completa comprensión antes de solicitar su firma.

Firma del Licenciado en Bioanálisis

Fecha \_\_\_\_\_

## VIII.2. FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

*ANALISIS CUANTITATIVO DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO MALASSEZIA COMO MICROBIOTA CUTANEA DE PIEL SANA DE INDIVIDUOS CON DIFERENTES CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS Y DE ESTADOS DE SALUD*

## FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

POBLACION: \_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_ NÚMERO DE MUESTRA: \_\_\_\_\_

NOMBRE Y APELLIDOS: \_\_\_\_\_

SEXO: \_\_\_\_\_ EDAD: \_\_\_\_\_

## EXAMEN DIRECTO

Localización anatómica	Positiva	Negativa	Descripción de las estructuras observadas al microscopio
Cuero cabelludo			
Pabellón Auricular			
Pecho			
Espalda			

NÚMERO DE MUESTRA: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN (CULTIVO)

Localización anatómica	Estudio macro- microscópico de las colonias	Catalasa	Tween 20 40 60 80	Especies aisladas
Cuero cabelludo				
Pabellón Auricular				
Pecho				
Espalda				

OBSERVACIONES:

---



---



---



---



---